



Complexes organométalliques fluorescents : quand le photovoltaïque mène aux théranostiques

Semra Tasan

► To cite this version:

Semra Tasan. Complexes organométalliques fluorescents : quand le photovoltaïque mène aux théranostiques. Chimie inorganique. Université de Bourgogne, 2013. Français. NNT : 2013DIJOS086 . tel-01228980

HAL Id: tel-01228980

<https://theses.hal.science/tel-01228980>

Submitted on 16 Nov 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



UNIVERSITÉ DE
SHERBROOKE

THÈSE

Présentée pour obtenir le grade de **DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE BOURGOGNE**

Mention : Chimie-Physique

Par
Semra TASAN
Maître ès Sciences

Complexes organométalliques fluorescents : quand le photovoltaïque mène aux théranostiques

Soutenue le 15 novembre 2013 devant la commission d'examen

V. BULACH	Professeur de l'Université de Strasbourg	Rapporteur
D. DENIAUD	Professeur de l'Université de Nantes	Rapporteur
T. S. BALABAN	Professeur l'Université d'Aix-Marseille	Examineur
P. LE GENDRE	Professeur de l'Université de Bourgogne	Directeur de thèse
P. D. HARVEY	Professeur de l'Université de Sherbrooke, Canada	Co-Directeur de thèse
C. GROS	Professeur de l'Université de Bourgogne	Co-Encadrant de thèse

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS	1
PRESENTATION GENERALE	3
CHAPITRE N°1 :	5
CONCEPTION DE POLYMERES ORGANOMETALLIQUES PHOTONIQUES A BASE DE METALLOCENES ET DE METALLOPORPHYRINES	5
I. INTRODUCTION : OBJECTIFS DE CE CHAPITRE	6
II. LES PORPHYRINES	8
II.1 Nomenclature.....	8
II.2 Structures.....	9
II.3 Propriétés spectroscopiques	10
II.4 Méthodes de synthèse des porphyrines	11
II.4.1 Les porphyrines meso-substituées.....	11
II.4.2 Les porphyrines β -substituées.....	14
III. SYNTHESSES DES PORPHYRINES UTILISEES	15
III.1 Synthèse de la porphyrine A ₃ B phénol métallée au zinc	15
III.2 Synthèse de la porphyrine A ₃ B benzoate base libre.....	17
III.3 Synthèse de la porphyrine β -substituée phénylacétylène métallée au zinc.....	18
III.3.1 Synthèse de l' <i>a,c</i> -biladiène	18
III.3.2 Synthèse de la meso- <i>p</i> -phénylacétylène porphyrine.....	19
IV. SYNTHESE DE COMPLEXES TITANOCENE « MODELES »	20
IV.1 Synthèse de complexes bisphénoxytitanocène	20
IV.1.1 Synthèse à partir de Cp ₂ TiCl ₂	21
IV.1.2 En présence de NEt ₃ et de NH ₄ Et.....	21
IV.1.3 En présence de différentes bases.....	23
IV.2 Synthèse à partir de Cp ₂ TiMe ₂	25
IV.3 Synthèse à partir de [Cp ₂ Ti].....	26
IV.4 Synthèse de complexes bisalcynyles titanocène	27
IV.4.1 Synthèse à partir de Cp ₂ TiCl ₂	27
IV.4.2 Synthèse à partir de Cp ₂ TiMe ₂	28
IV.5 Synthèse de complexes bisbenzoates titanocène.....	28
V. SYNTHESE DE COMPLEXES TITANOCENE-PORPHYRINE.....	29
V.1 Synthèse du complexe Cp ₂ Ti(O-porph) ₂	29
V.1.1 Synthèse à partir de Cp ₂ TiCl ₂	29
V.1.2 Synthèse à partir de Cp ₂ TiMe ₂ et [Cp ₂ Ti].....	32
V.2 Synthèse du complexe Cp ₂ Ti(C \equiv C-porph) ₂	34
V.2.1 Synthèse à partir de Cp ₂ TiCl ₂	34
V.2.2 Synthèse à partir de Cp ₂ TiMe ₂	35
V.3 Synthèse du complexe Cp ₂ Ti(OOC-porph) ₂	35
VI. CONCLUSION	37
INTRODUCTION GENERALE.....	39
I. QU'EST-CE QUE LE CANCER ?	40
I.1 Situation actuelle.....	40
I.2 Différence entre une cellule saine et une cellule cancéreuse.....	40
I.3 Traitements du cancer	41
II. LES THERANOSTIQUES.....	42
III. LES DIFFERENTES TECHNIQUES D'IMAGERIE MEDICALE	44

III.1	La radiographie.....	44
III.2	L'échographie	45
III.3	L'Imagerie par Résonance Magnétique	46
III.4	L'imagerie radioisotopique.....	48
III.4.1	L'imagerie TEP.....	48
III.4.2	L'imagerie TEMP.....	51
III.5	L'imagerie optique.....	52
III.5.1	Principe de la fluorescence.....	53
III.5.2	Les paramètres caractéristiques de la fluorescence.....	55
III.5.3	L'imagerie optique dans le proche infrarouge.....	57
III.5.4	Les différentes molécules fluorescentes	59
IV.	INTERETS DES METAUX EN ONCOLOGIE.....	65
IV.1	Les dérivés du ruthénium et de son analogue osmium	66
IV.1.1	Les dérivés du ruthénium.....	66
IV.1.2	Les dérivés de l'osmium	72
IV.2	Les dérivés de l'or	76
V.	BUT DU SUJET : LES THERANOSTIQUES APPLIQUES A L'ORGANOMETALLIQUE	80
V.1	État de l'art	80
V.2	Exemples de la littérature.....	81
V.2.1	Théranostiques optiques (hors BODIPY et porphyrine)	81
V.2.2	Système avec des BODIPYs.....	83
V.2.3	Systèmes avec des porphyrines.....	84
	CHAPITRE N°2 :.....	86
	SYNTHESES DE NOUVEAUX THERANOSTIQUES A BASE DE BODIPYS	86
I.	INTRODUCTION.....	87
I.1	État de l'art.....	87
I.2	Généralités sur les BODIPYs.....	87
I.3	Domaines d'applications	88
I.3.1	Pour des nouveaux matériaux.....	88
I.3.2	Détection d'analytes	89
I.3.3	Marquage biologique	91
I.4	Optimisation des propriétés photophysiques : BODIPYs émettant dans le proche IR	92
II.	SYNTHESES DE SYSTEMES BODIPY-METAL.....	93
II.1	Synthèse du synthon BODIPY.....	93
II.1.1	Synthèse à partir d'une fonction aldéhyde.....	94
II.1.2	Synthèse à partir d'un dérivé acide carboxylique	94
II.1.3	Synthèse par auto-condensation du 2-formylpyrrole.....	95
II.1.4	Synthèse du BODIPY 4-carboxyphényle.....	95
II.2	Synthèses du ligand BODIPY-aryl phosphine.....	96
II.2.1	Synthèse du synthon BODIPY éthylènediamine.....	96
II.2.2	Approche convergente : couplage avec le dérivé ester activé ruthénium.....	98
II.2.3	Approche linéaire : couplage peptidique avec le précurseur diphénylphosphine.....	98
II.3	Complexation sur le métal	99
II.3.1	Synthèses des précurseurs	99
II.3.2	Complexation.....	100
II.4	Tests pour augmenter l'hydrosolubilité	104
III.	ETUDES PHOTOPHYSIQUES / PHOTOCIMIQUES.....	106
III.1	Propriétés d'absorption et de fluorescence.....	106
III.2	Mesures de temps de vie.....	108
III.3	Explication de l'inhibition de la fluorescence des composés 54 et 67	109
IV.	TESTS BIOLOGIQUES	116
IV.1	Analyses de cytotoxicité.....	116

IV.2	Propriétés fluorescentes dans les cellules par microscopie confocale	117
IV.3	Analyse des résultats	119
IV.4	Études de stabilité des complexes	120
V.	ELABORATION D'UN SYSTEME VECTORISABLE	124
V.1	Stratégies envisagées	124
V.2	Synthèses du système trifonctionnel	125
V.2.1	Choix de l'espaceur	125
V.2.2	Synthèse du ligand BODIPY phosphine	126
V.2.3	Complexation aux dérivés organométalliques	133
V.3	Greffage sur des biomolécules	135
V.3.1	Choix de la biomolécule	135
V.3.2	Greffage de la biomolécule	136
VI.	CONCLUSION	138
	CHAPITRE N°3 :	140
	SYNTHESES DE SYSTEMES BIMETALLIQUES DE PORPHYRINE PHOSPHINE	140
I.	INTRODUCTION (ETAT DE L'ART)	141
II.	SYNTHESES DU SYSTEME PORPHYRINE-METAL	142
II.1	Synthèse à partir de la porphyrine benzylamine	142
II.1.1	Stratégie de synthèse	142
II.1.2	Synthèse du précurseur porphyrinique	142
II.1.3	Couplage direct avec le dérivé ester activé ruthénium	144
II.1.4	Couplage peptidique avec le précurseur diphenylphosphine	144
II.1.5	Complexation du ligand porphyrine phosphine	145
II.2	Synthèse à partir de la porphyrine aniline	146
II.2.1	Stratégie de synthèse	146
II.2.2	Synthèse des précurseurs porphyriniques	147
II.2.3	Couplage avec l'ester activé aryldiphenylphosphine	150
II.3	Synthèse à partir de la porphyrine isothiocyanate	150
II.3.1	Stratégie de synthèse	150
II.3.2	Synthèse des précurseurs porphyriniques	151
II.3.3	Couplage avec la 4-(diphenylphosphino)aniline	152
II.3.4	Couplage avec la 2-(diphenylphosphino)éthanamine	153
II.3.5	Complexation avec des dérivés organométalliques	156
III.	ETUDES PHOTOPHYSIQUES / PHOTOCIMIQUES	166
III.1	Propriétés photophysiques des composés porphyriniques bases libres	166
III.1.1	Propriétés d'absorption	166
III.1.2	Spectres d'émission et d'excitation	167
III.2	Propriétés photophysiques des composés porphyriniques de palladium	169
III.2.1	Propriétés d'absorption	169
III.2.2	Spectres d'émission et d'excitation	170
III.3	Explication de l'inhibition de la fluorescence des complexes à base de ruthénium et d'osmium	173
IV.	VERS UN SYSTEME PLUS ELABORE : PORPHYRINE-RAPTA	177
IV.1	Stratégies envisagées	177
IV.2	Synthèse à partir du précurseur cyclohexadiène amine	179
IV.3	Synthèse à partir du précurseur dimérique de ruthénium	180
IV.3.1	Synthèse du précurseur dimérique de ruthénium	180
IV.3.2	Couplage avec la porphyrine isothiocyanate	181
IV.4	Synthèse à partir du complexe [RuCl ₂ (η ⁶ -arène)(PPh ₃)]	182
IV.4.1	Synthèse du complexe [RuCl ₂ (η ⁶ -arène)(PPh ₃)]	182
IV.4.2	Couplage avec la porphyrine isothiocyanate	183
IV.5	Synthèse à partir du complexe [RuCl ₂ (η ⁶ -arène)(PTA)]	184

IV.5.1	Synthèse du complexe $[RuCl_2(\eta^6\text{-arène})(PTA)]$	184
IV.5.2	Couplage avec la porphyrine isothiocyanate	185
V.	CONCLUSION	187
	CONCLUSION GENERALE	188
	EXPERIMENTAL PART	190
	INSTRUMENTATION	191
	BIBLIOGRAPHIE	271
	COMMUNICATIONS DES RESULTATS	283

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé à l'Institut de Chimie Moléculaire de l'Université de Bourgogne (ICMUB) dans les équipes de recherche de Organométallique et Catalyse pour une Chimie Bio- et éco-Compatible (OMBC³) et de Polyamines, Porphyrines, Développements et Applications (P2DA), Unité Mixte de Recherche 6302 entre l'Université de Bourgogne et le Centre National de la Recherche Scientifique. Il a également été réalisé en cotutelle avec l'Université de Sherbrooke (Canada).

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde reconnaissance à Madame Véronique BULACH, Professeur de l'Université de Strasbourg et à Monsieur David DENIAUD, Professeur de l'Université de Nantes, pour avoir accepté de prendre la charge de rapporteurs de cette thèse. Je remercie également très sincèrement Monsieur Teodor Silviu BALABAN, Professeur de l'Université de Aix-Marseille, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je remercie Professeur Franck DENAT pour m'avoir donné l'opportunité de travailler dans l'institut mais surtout pour m'avoir aidé à obtenir mon poste d'ATER après la fin de mon contrat de thèse. Sans lui, je n'aurais pas pu aboutir à mon travail de thèse.

J'exprime ma profonde gratitude pour le Professeur Pierre LE GENDRE pour avoir pris la direction de ma thèse pendant ces quatre années. Je le remercie pour m'avoir guidé dans mes recherches, pour son enthousiasme et son soutien tout au long de ma thèse. Le seul reproche que je pourrais faire à Pierre LE GENDRE est son amour pour la recherche scientifique, ce qui engendre de très longues discussions (qui peuvent durer plusieurs heures) dans son bureau le soir après 18 h lorsque qu'on veut absolument terminer les manipulations en cours dans le laboratoire ! Je le remercie également pour son soutien et son aide pour l'obtention de mon poste d'ATER. Ce fut un plaisir pour moi de travailler avec lui lors de mes enseignements pour les travaux dirigés et pratiques (ce qui ont conduit également à d'autres sujets de conversation dans son bureau !).

Je souhaiterais également remercier le Professeur Pierre D. HARVEY, d'une part pour son accueil chaleureux (malgré le froid canadien) qu'il m'a réservé au sein de son laboratoire durant deux mois à l'Université de Sherbrooke, et d'autre part pour avoir réussi à trouver un financement pour ma thèse. Je le remercie également pour ses nombreuses explications données (avec une telle simplicité) dans le domaine de la photophysique, ce que je pense ne lui a pas été facile pour une personne comme moi n'ayant jamais eu de « cursus en photophysique » ! Je remercie également tous les étudiants du laboratoire de Pierre D. HARVEY pour leur accueil et l'ambiance mais surtout Antoine et Adam pour leur aide au niveau des appareils. Je tiens particulièrement à remercier mon frangin Bertrand BRIZET, thésard en cotutelle de l'Université de Bourgogne et de l'Université de Sherbrooke, pour m'avoir formé au niveau pratique sur les différents appareils et ses conseils précieux, mais surtout pour son accueil chaleureux (à côté de son poêle à bois où nous avons eu de nombreuses discussions avec quelques bières canadiennes) et pour notre amitié qui s'est renforcé lors de ce stage au Canada.

J'adresse mes plus sincères remerciements au Professeur Claude GROS pour m'avoir co-encadré durant ces quatre années de thèse, ainsi que pour sa disponibilité scientifique et personnelle dont il a pu me consacrer. Je suis surtout impressionnée par son enthousiasme à organiser différent type d'évènements scientifiques avec rigueur et précision, où personne ne peut lui faire un reproche à ce niveau-là.

Je remercie chaleureusement le Docteur Jean-Michel BARBE pour avoir co-encadré mes travaux sur la première partie de ma thèse, ainsi que pour ses encouragements, ses conseils et ses remarques constructives sur la synthèse des porphyrines.

Je remercie très sincèrement Dr. Angela CASINI de l'Université de Groningen (Pays-Bas), collaboratrice de l'équipe du Pr. Pierre LE GENDRE, d'avoir réalisé toutes les études biologiques sur les molécules présentées dans ce manuscrit mais également pour ses mails de soutien. Je remercie également Dr. Christian GAIDDON, Directeur de Recherche chez l'INSERM à Strasbourg, pour les analyses biologiques effectuées sur d'autres molécules.

Rien de ce travail n'aurait été possible sans l'aide, le soutien et la disponibilité au quotidien de mon encadrant (ou notre fameux « stagiaire sécurité ») Docteur Ewen BODIO. Malheureusement, je n'avais plus de place dans mon contrat de thèse, au niveau de la liste des encadrants, pour ajouter Ewen BODIO ! Son arrivé au sein de l'équipe de Pierre LE GENDRE m'a permis de voir d'autres applications que celles fixées initialement. Ce fut pour moi un grand plaisir et une fierté de passer trois années de doctorat sous sa direction. Je le remercie pour la confiance qu'il m'a accordée, ses conseils, l'expérience et sa vision de la chimie qu'il m'a transmis aux travers de nombreuses discussions scientifiques.

Je voudrais associer à mes remerciements, une personne « qui n'est rien pour moi », Dr. Michel PICQUET (nommé Pikatchou) pour sa disponibilité en permanence, ses remarques et ses conseils constructives, son soutien moral mais surtout pour ses blagues (qu'il faut les juger personnellement).

Je remercie également Dr. Virginie COMTE pour m'avoir encadré lors de mon stage en Master mais surtout pour son aide et ses conseils de maman pour tous mes problèmes de santé.

Les conseils dans la chimie du titane prodigués par le Professeur Claude Moïse ont été d'une aide précieuse pour mon premier sujet. Ses nombreux voyages en Turquie nous ont permis de créer une relation autre que la relation Professeur-étudiant.

Je remercie également Jérôme Bayardon pour sa disponibilité et son aide pour des explications en chimie organique, et avec qui nous partageons la passion pour les bonbons. Je remercie également Raluca Malecea pour ses aides, pour son sourire au quotidien et l'ambiance qu'elle a su créer en organisant divers jeux et repas au deuxième étage. Je remercie Professeur Sylvain Jugé pour son soutien et nos diverses discussions qu'on a pu avoir (même le week-end!) et m'a permis de voir qu'il a une culture énorme au niveau de l'histoire de chaque pays. Je remercie également Richard Décréau pour nos longues discussions scientifiques (très utiles et intéressantes pour mon futur !) et son aide pour ma recherche d'un post-doc.

Je remercie Docteur Christine GOZE pour la collaboration et les informations sur les BODIPYs qu'elle a pu me donner, et pour nos diverses discussions agréables. Je remercie également Charles DEVILLERS pour les études électrochimiques, pour ses nombreuses explications en électrochimie et ce fut un plaisir de travailler avec lui lors de mes enseignements. Mes remerciements vont également à Didier Poinot pour les manipulations réalisées sous hydrogénation. Je tiens particulièrement à remercier mon étoile, ma galaxie, mon soleil (surtout pour le peu de soleil à Dijon) Marc PIRROTTA pour m'avoir synthétisé le précurseur BODIPY mais surtout pour m'avoir donné le sourire au quotidien. Je remercie également Cédric BALAN pour la synthèse de certains précurseurs et pour m'avoir dépanner sur mes problèmes de pompe.

Je tiens absolument à remercier Dr. Dominique FASSEUR-VERVANDIER pour m'avoir soutenu dès la L3, pour la confiance qu'elle m'a accordée et pour les enseignements qu'on a effectué ensemble. Elle représente ma deuxième maman (de l'ICMUB).

Je remercie les informaticiens Christine STERN et Alain TABARD pour leur aide précieuse apportée en informatique (surtout avec mon niveau) et plus particulièrement Christine, qui grâce elle, j'ai pu résoudre mon gros problème de dernière minute sur la mise en page de mon rapport, permettant ainsi de soutenir ma thèse !

Pour les analyses, leur aide et leurs conseils concernant la spectrométrie de masse, je tiens à remercier les deux superbes anges Marie-José Penouilh Suzette De La Vega et Fanny Picquet-Chaux (ou saupiquet). Elles ont su m'apporter le sourire et la confiance en elle. Je veux juste vous dire que vous êtes superbes les copines !

Il a été particulièrement agréable de travailler au sein de plusieurs équipes. Cela m'a permis de connaître des personnes que j'apprécie énormément avec en particulier ma copine Paulette. Elle a su m'écouter, m'épauler, m'aider au quotidien (on a pu verser énormément de larmes au *Beer Country* pour nos dépressions liés ou non à la thèse). Je remercie également Claire Bernhard pour son soutien scientifique et personnel au quotidien. Elle a su être disponible pour mes nombreuses questions sur les BODIPYs. Je tiens à remercier mes collègues et mes amis rencontrés durant ces quatre années de thèse, avec qui j'ai passé de très bons moments, Sophal, Antoine, Fred, Mathieu (pour sa gentillesse et son aide au quotidien), Guillaume Paulin, Guillaume Ortiz, Sophie, mes lapins (Damien, Yann et Clément), Nicolas Weibel, Loïc, Benoît (les 2 !), Nicolas Sok, Mylène (promis on se boit la bière qu'on a prévu depuis un long moment), Alexandra, Emilie, Pierre-Emmanuel (bon courage pour la suite de ma thèse !), Marie-Laure, Quentin, Mathieu Dutartre, Pauline Minois, Emmanuelle, Julie, Hassib, Arnaud Perrier, Roxana, Stéphanie (pour nos nombreuses discussions échangées, ses conseils et pour son sourire au quotidien) et je n'oublie surtout pas ma copine Naïma pour tout ce qu'elle m'a apportée ! Plus généralement, je remercie toutes les personnes de l'ICMUB pour les bons moments passés ensemble !

Je tiens absolument à remercier une personne avec qui j'ai pu avoir un lien amical très fort, avec qui j'ai pu m'exprimer ma joie ou ma mauvaise humeur, avec qui j'ai pu avoir des fous rires au labo et apprécier d'avoir travailler avec elle, et une personne à qui j'ai pu accorder toute ma confiance, Margot !

Mes derniers remerciements vont bien sûr à mes parents, ma sœur, mon beau-frère, mes nièces (que je les adore plus que tout !) et mes frères pour m'avoir toujours soutenu et encouragé dans mes choix. Je tiens à remercier plus particulièrement mon grand-frère, qui grâce à lui, j'ai pu trouver la force et le courage tous les jours pour continuer jusqu'au bout, malgré les bons et surtout les mauvais moments. Sans Toi, je n'aurais jamais réussi à être ce que je suis devenue aujourd'hui. Bien sûr, je remercie mon adorable mari, Isa, qui m'a soutenu moralement dans les mauvais moments et qui m'a supporté (c'est le cas de le dire !) jusqu'à la fin ! Je le remercie également pour son aide apportée sur mon rapport à la fin de ma thèse. Je ne trouve pas de mots à part te dire MERCI pour tout !

Je dédie cette thèse à mon grand-frère Huseyin...

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Abs	Absorption
ACN	Acétonitrile
Ac₂O	Anhydride acétique
AcOH	Acide acétique
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
APTS	Acide <i>Para</i> -ToluèneSulfonique
BODIPY	DifluoroBOron DIPYrrromethene
br	Broad
Bz	Benzyle
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
Cp	Cyclopentadiényle / Cyclopentadiène
d	Doublet
DABCO	1,4-DiAzaBicyclo[2.2.2]Octane
DBU	1,8-DiazaBicyclo[5.4.0]Undéc-7-ène
DDQ	2,3-Dichloro-5,6-Dicyano-1,4-benzoQuinone
DIPEA	DiIsoPropylÉthylAmine
DMF	DiMéthylFormamide
DMSO	DiMéthylSulfOxyde
EDC	1-Éthyl-3-(3-Diméthylaminopropyl)Carbodiimide
Em	Émission
eq	Équivalent
ESI	ElectroSpray Ionization
Exc	Excitation
FDG	FluoroDesoxyGlucose
FITC	Fluorescein IsoThioCyanate
Fmoc	9-FluorenylMethOxyCarbonyl
GFP	Green Fluorescent Protein
hept	Heptuplet
HIFU	High Intensity Focused Ultrasound
HOMO	Highest Occupied Molecular Orbital
H₂TPP	TétraPhénylPorphyrine base libre
IC₅₀	Half maximal Inhibitory Concentration
<i>i</i>PrOH	<i>iso</i> -Propanol
IR	Infra Rouge
J	Constante de couplage
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
KHMDS	Potassium HexaMéthylDiSilazane
LUMO	Lowest Unoccupied Molecular Orbital
m	Multiplet
MALDI-TOF	Matrix Assisted Laser Desorption Ionization - Time Of Flight
2-MeTHF	2-MéthylTétraHydroFuranne
MS	Mass Spectrometry/Spectrométrie de Masse
NHS	<i>N</i> -HydroxySuccinimide
Patm	Pression atmosphérique
PBS	Phosphate Buffered Saline
Pd/C	Palladium sur charbon activé
PDT	PhotoDynamic Therapy/Thérapie PhotoDynamique
PEG	PolyÉthylène Glycol

PTA	1,3,4-triaza-7-phosphatricyclo[3.3.1.1]décane
q	Quadruplet
RAPTA	Ruthenium Arene PTA
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
s	Singulet
t	Triplet
TA	Température Ambiante
TBAF	Tétra-n-ButylAmmonium Fluoride
tBuOH	<i>tert</i> -Butanol
TEMP	Tomographie par Émission de Positons
TEP	Tomographie par Émission MonoPhotonique
TFA	TriFluoroacetic Acid
THF	TétraHydroFuranne
THT	TétraHydroThiophène
TMS	TriMéthylSilane
TTP	TétraTolylPorphyrine
UV	Ultra Violet

PRÉSENTATION GÉNÉRALE

Ce sujet de thèse est un avant tout un projet translationnel se basant sur les savoir-faire de plusieurs équipes de l'Institut Moléculaire de l'Université de Bourgogne (ICMUB) et de leurs collaborateurs. Il a été dirigé conjointement par le groupe du Pr. Pierre D. Harvey de l'Université de Sherbrooke, spécialisé dans le domaine de la photophysique, l'équipe du Pr. Pierre Le Gendre, spécialisée dans la synthèse de complexes organométalliques et de leurs applications en médecine et l'équipe du Pr. Claude Gros, spécialisée dans la synthèse de porphyrines. Initialement, le projet se focalisait sur la synthèse de nouveaux complexes organométalliques photoniques à base de titanocènes et de métalloporphyrines visant à la conception de cellules solaires. Cependant, au grès des résultats et des opportunités, le projet s'est peu à peu tourné vers l'application de ce type d'objet « complexe organométallique – fluorophore » au domaine médical et plus particulièrement de la théranostique.

Ce manuscrit est composé de trois chapitres s'articulant autour de deux parties.

La première partie est consacrée au sujet initial du projet. Après une brève introduction, dans le premier chapitre de ce manuscrit, nous présentons la synthèse des complexes de titane et de métalloporphyrines. En particulier, nous décrivons la synthèse des composés modèles et les difficultés rencontrées lors du passage aux dérivés porphyriniques.

La deuxième partie traite de l'application de ce type de composés à la théranostique et plus précisément aux théranostiques optiques. Elle commence par une introduction détaillée qui définit les enjeux cette thématique émergente autant du point de vue de l'imagerie que de la thérapie. Suivent les chapitres deux et trois de la thèse.

Dans le deuxième chapitre, nous présentons la synthèse d'agents théranostiques présentant un fragment métallique à activité thérapeutique lié à un BODIPY, sonde fluorescente connue pour ses propriétés optiques intéressantes. Leur caractérisation et l'étude de leurs propriétés biologiques seront également décrites.

Le troisième chapitre porte sur la synthèse de complexes hétérobimétalliques incorporant des métaux d'intérêt pour l'oncologie. Ces complexes sont également développés pour la recherche d'agents théranostiques. Le ligand utilisé pour l'imagerie médicale est la porphyrine. Ce chapitre inclut aussi les études photophysiques de nos complexes.

PARTIE I

CHAPITRE N°1 :

CONCEPTION DE POLYMÈRES ORGANOMÉTALLIQUES PHOTONIQUES À BASE DE MÉTALLOCÈNES ET DE MÉTALLOPORPHYRINES

I. INTRODUCTION : OBJECTIFS DE CE CHAPITRE

Ce projet consiste en l'étude de la synthèse de complexes organométalliques bioinspirés visant à la conception de cellules solaires. Ces travaux s'inscrivent dans le cadre plus global des recherches menées à l'institut visant à développer de nouveaux « outils » par ingénierie moléculaire pour le développement durable. L'énergie solaire constitue en effet une source d'énergie abondante, renouvelable et propre. Un des défis technologiques actuels dans ce domaine concerne le vieillissement prématuré des cellules voltaïques à cause de la sensibilité des matériaux organiques utilisés au rayonnement solaire. Ce projet vise donc à trouver des alternatives aux matériaux actuels. Nous proposons d'explorer de nouveaux polymères combinant des motifs organométalliques à priori plus robustes photochimiquement semblable aux métalloporphyrines (en absence d'oxygène) et présentant des propriétés rédox appropriées pour l'effet photovoltaïque. Les motifs clefs au sein de ces structures sont inspirés de systèmes photosynthétiques naturels que l'on peut trouver dans les cyanobactéries.¹

Le centre réactionnel des cyanobactéries est la partie dans laquelle se produit la réaction de séparation de charge d'une chlorophylle excitée. Les centres réactionnels des cyanobactéries et des plantes vertes se composent de chromophores et de transporteurs d'électrons qui sont liés de manière non covalente à des protéines. Plus précisément, le centre réactionnel est constitué de deux bactériophéophytines *b* (Phéo *b*), de deux quinones (ménaquinone Q_A et ubiquinone Q_B), et un atome de Fe(II). Son cœur est constitué d'une paire spéciale de bactériochlorophylles *a* disposées selon un arrangement cofacial à une distance suffisamment proche pour permettre l'établissement d'interactions π - π fortes (Figure 1 et Figure 2).²⁻⁶ Seule cette paire spéciale est réactive. Sous excitation lumineuse, la paire spéciale initie un transfert d'électrons à la succession de sites accepteurs et donneurs d'électrons. En effet, elle éjecte un électron vers une phéophytine, qui en cascade l'envoie vers les quinones créant ainsi une lacune électronique dans cette paire. Pour combler cette paire cationique, le centre réactionnel dispose d'une protéine appelée cofacteur. Cette protéine comporte quatre hèmes (porphyrine de Fe(II)) qui combleront cette lacune électronique par un processus en chaîne.¹ Chaque processus se produit dans une échelle de temps de la picoseconde.

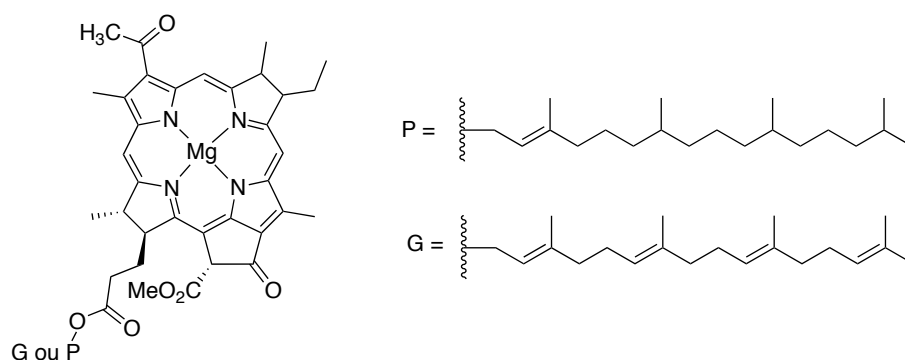


Figure 1 : Structure de la bactériochlorophylle *a* présente dans la photosynthèse.

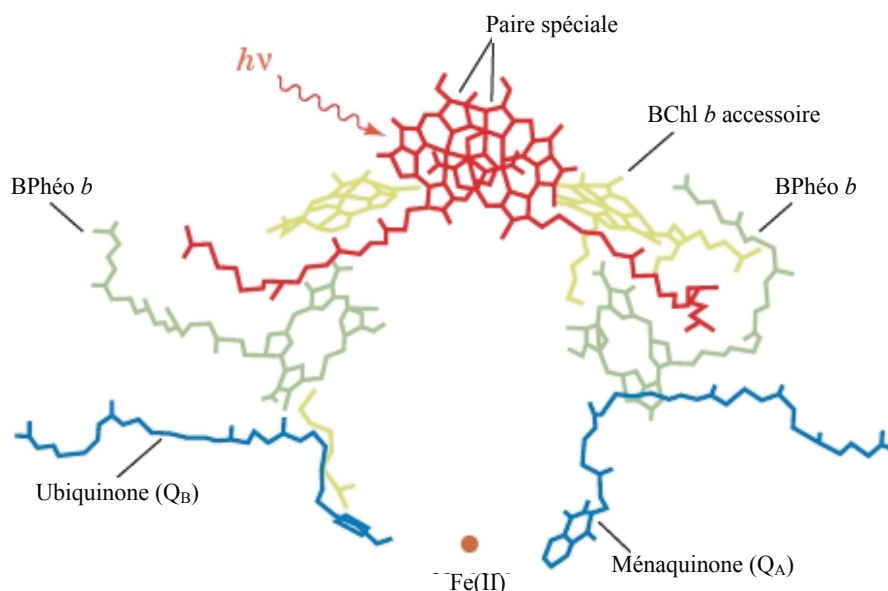


Figure 2 : Centre réactionnel de la bactérie *Rhodospseudomonas*.⁷

Les porphyrines constituent un élément clef de ces systèmes photosynthétiques naturels et ont donc été tout naturellement utilisées pour développer des systèmes artificiels.⁸⁻¹² En raison de l'importante complexité de la photosynthèse naturelle, son étude nécessite l'élaboration de modèles simples dont le but est de mettre au point des systèmes photosynthétiques artificiels performants, ce qui fait l'objet de notre sujet de thèse.

Afin de mimer le centre réactionnel, des chercheurs ont développé des systèmes appelés *Pacman*, constitués de deux porphyrines disposées face à face grâce à un espaceur organique. En 1977, Chang¹³ et Collman¹⁴ ont réussi à relier de manière covalente deux porphyrines en position *meso* à un espaceur anthracène DPA¹³ et biphénylène DPB.¹⁴ Quelques années plus tard, d'autres systèmes *Pacman* ont été développés par les Professeurs Harvey et Guillard, en utilisant les espaceurs DPA, DPB, dibenzofurane DPO, dibenzothiophène DPS et diméthylxanthène DPX (Figure 3).¹⁵⁻¹⁷

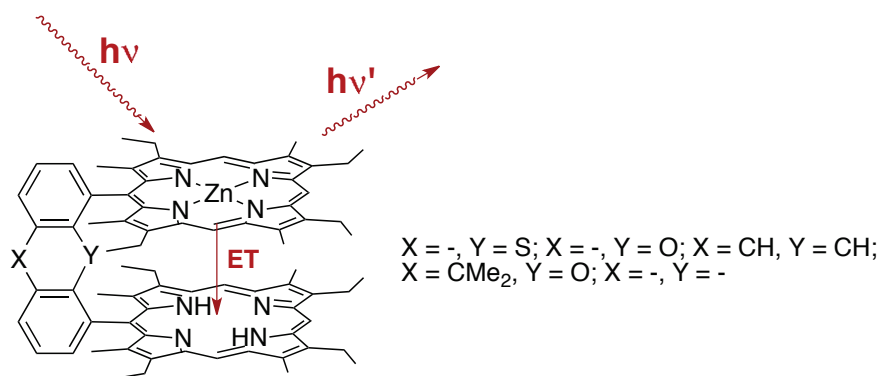


Figure 3 : Structure des systèmes *Pacman* développés par Harvey et Guillard.¹⁵⁻¹⁷ ET définit le transfert d'énergie.

Ces systèmes donneur-accepteur ont été synthétisés dans le but d'explorer le transfert d'énergie singulet-singulet à partir du centre de la porphyrine métallée photoexcitée reliée à une porphyrine base libre. La porphyrine métallée au zinc(II) joue le rôle de donneur tandis que la porphyrine base libre joue le rôle d'accepteur. Les résultats ont montré qu'il y a un transfert d'énergie singulet singulet efficace à travers l'espace par le mécanisme de Dexter ou Förster (courte ou longue distance).^{18,19} Par ailleurs, l'étude d'un grand nombre de ces dérivés a permis de corrélérer la distance

intermacrocyclique et l'angle d'ouverture de ces systèmes à leurs propriétés photophysiques. Nous avons donc voulu changer l'espaceur organique utilisé dans les systèmes Pacman par un espaceur organométallique : un complexe de titane dans le but de rapprocher les deux systèmes porphyriniques.

Notre objectif dans un premier temps a été de développer des systèmes analogues en remplaçant le pont organique par une agraphe organométallique de type métallocénique. Le fragment organométallique aura pour vocation d'une part d'assurer une orientation convenable de porphyrines mais il pourra également intervenir dans le processus notamment comme accepteur d'électron. Les molécules cibles sont représentées dans la Figure 4. Elles comportent deux fragments porphyriniques liés à un complexe titanocène par un groupement de type phénate, acétylure et carboxylate. Des systèmes symétriques comportant deux porphyrines métallées au zinc et dissymétriques (métallés et bases libres) seront visés dans un premier temps.

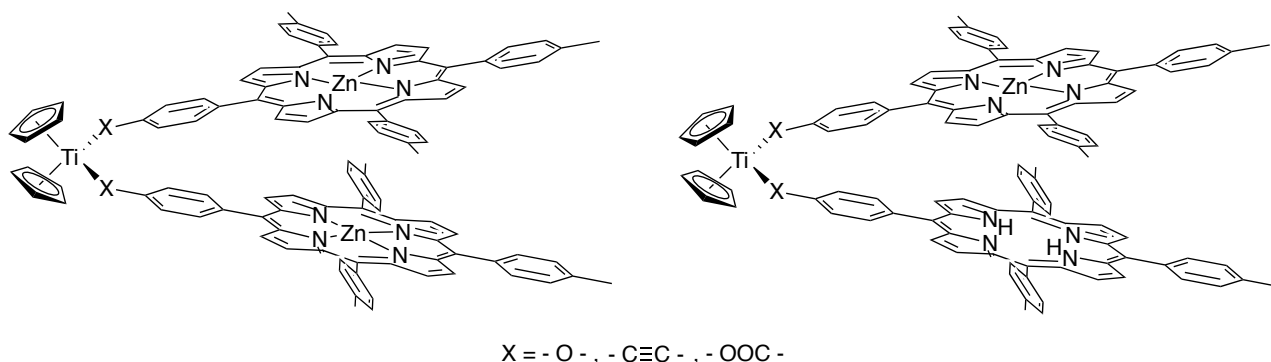


Figure 4 : Structure des molécules cibles.

Des études photophysiques et électrochimiques devront être menées sur ces systèmes modèles. À terme, l'objectif sera alors de préparer des polymères organométalliques alternant des noyaux porphyriniques et titanocènes.

Avant d'aborder la synthèse de ces composés, nous présenterons quelques aspects théoriques sur la nomenclature, la structure, la synthèse et les propriétés des porphyrines. La synthèse et l'utilisation des porphyrines sont à la fois étudiées dans le chapitre n°1 et le chapitre n°3.

II. LES PORPHYRINES

Les macrocycles porphyriniques sont des composés très répandus dans le milieu naturel. Ces molécules jouent différents rôles dans les milieux biologiques, pouvant absorber l'énergie lumineuse et effectuer des réactions de transfert d'énergie et d'électrons (systèmes photosynthétiques), transporter des petites molécules (transport de l'oxygène par l'hème), et catalyser des réactions chimiques (cytochrome P450).

II.1 Nomenclature

Les porphyrines sont des macrocycles tétrapyrroliques, ayant fait l'objet de différents types de nomenclature. La première fut celle de Fisher au début du XX^{ème} siècle, très utilisée par les biochimistes. La nomenclature IUPAC a été instaurée à la fin du XX^{ème} siècle du fait de la

complexité grandissante des porphyrines étudiées (Figure 5). De manière usuelle, les termes de position *meso* (carbones 5, 10, 15, 20), β -pyrroliques (carbones 2, 3, 7, 8, 12, 13, 17 et 18) et α -pyrroliques sont utilisés.

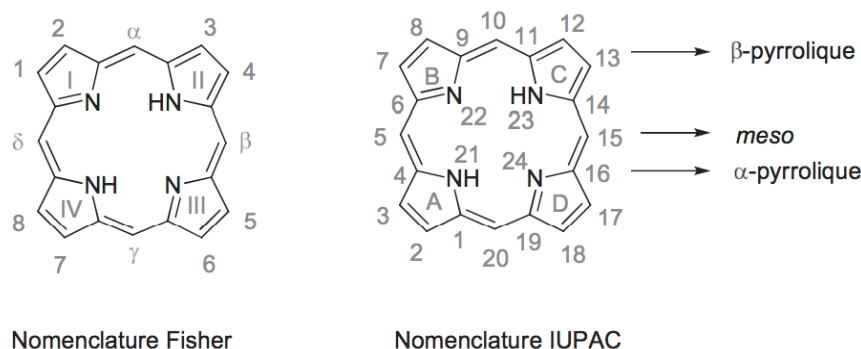
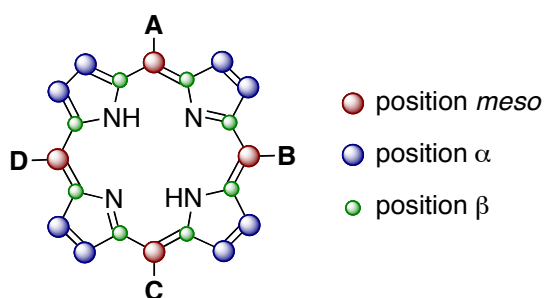


Figure 5 : Nomenclature des porphyrines.

Les porphyrines *meso*-substituées sont subdivisées en sept types : A_4 , A_3B , *cis*- A_2B_2 , *trans*- A_2B_2 , *cis*- A_2BC , *trans*- A_2BC et ABCD (Figure 6).



Substituants	Type
$A = B = C = D$	A_4
$A = C = D \neq B$	A_3B
$A = B \neq C = D$	<i>cis</i> - A_2B_2
$A = C \neq B = D$	<i>trans</i> - A_2B_2
$A = B \neq C \neq D$	<i>cis</i> - A_2BC
$A = C \neq B \neq D$	<i>trans</i> - A_2BC
$A \neq B \neq C \neq D$	ABCD

Figure 6 : Structure des sept types de porphyrines *meso*-substituées.

II.2 Structures

Les porphyrines sont constituées de quatre unités pyrroliques liées entre elles par des ponts méthènes. Elles sont des molécules aromatiques planes comportant 22 électrons π délocalisés dont 18 forment le système aromatique. Les doubles liaisons qui ne participent pas à l'aromaticité du cycle peuvent être réduites et former ainsi deux dérivés porphyriniques, les chlorines à 20 électrons π dont 18 aromatiques et les bactériochlorines à 18 électrons π (Figure 7). La forte conjugaison entre les doubles liaisons $C=C$ confère à ces molécules une grande stabilité ($T_{\text{décomposition}} = 360\text{ }^{\circ}\text{C}$) et une forte absorption dans le domaine du visible.

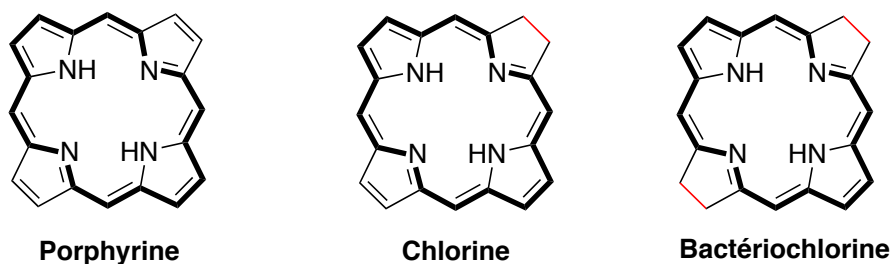


Figure 7 : Système aromatique des porphyrines, chlorines et bactérochlorines.

Les porphyrines, dites *bases libres*, peuvent être métallées au centre du macrocycle par la plupart des métaux de la classification périodique pour donner des métalloporphyrines. Le métal M est alors stabilisé par des liaisons « N-M » avec les quatre atomes d'azote. Les propriétés des métalloporphyrines dépendent du métal présent dans la cavité porphyrinique. La cavité de la porphyrine a une taille constante du fait de la rigidité du cycle aromatique. Or, certains métaux de transition sont trop gros pour la cavité porphyrinique et se situent hors du plan défini par les quatre atomes d'azote du cycle (Figure 8). La plupart des métaux à l'intérieur de la cavité porphyrinique peuvent compléter leur sphère de coordination par des ligands axiaux qui sont typiquement des molécules de solvant et sont donc relativement labiles.²⁰

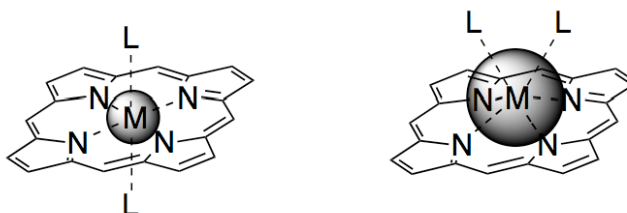


Figure 8 : Schéma de coordination du métal dans la cavité porphyrinique. À gauche, métal de taille adaptée à la cavité. À droite, métal plus gros que la cavité. D'après *The Porphyrin Handbook*.²⁰

De plus, pour les porphyrines bases libres, les azotes pyrroliques peuvent se protoner pour former une entité dicationique ou se déprotoner pour former l'entité dianionique.

II.3 Propriétés spectroscopiques

Du fait de la forte délocalisation des électrons π des porphyrines, ces molécules absorbent fortement dans le domaine du visible. Sur un spectre UV-visible, elles présentent en général une bande d'absorption très intense entre 390 et 430 nm appelée *bande de Soret* (ou *bande B*), caractéristique des systèmes tétrapyrroliques. Cette bande de Soret correspond à une transition de l'état fondamental S_0 vers l'état excité S_2 . Les porphyrines présentent également des bandes beaucoup moins intenses entre 500 et 680 nm appelées *bandes Q*. Ces bandes Q sont issues de la transition de l'état fondamental S_0 vers l'état excité S_1 et sont responsables de la forte coloration de ces composés.

Le nombre de bandes Q dépend de la géométrie de la porphyrine. Les porphyrines bases libres sont caractérisées par quatre bandes Q alors que les métalloporphyrines n'en présentent plus que deux, voire qu'une seule (Figure 9).

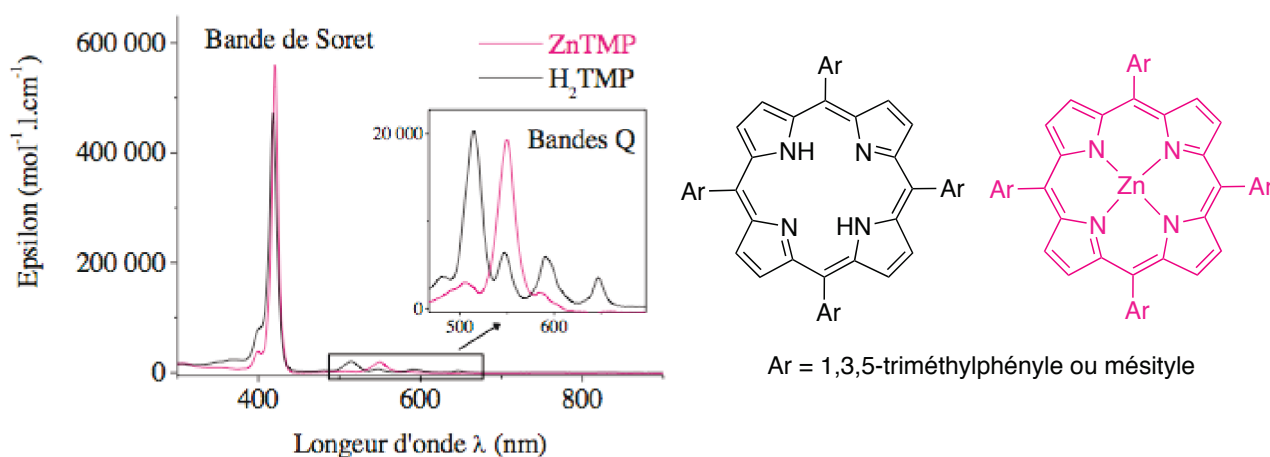


Figure 9 : Exemple des spectres d'absorption des porphyrines H₂TMP et ZnTMP dans CH₂Cl₂ à 25 °C.

Le coefficient d'absorption molaire ϵ permettant de caractériser chaque bande d'absorption des porphyrines est supérieur à 100 000 mol⁻¹.L.cm⁻¹ pour la bande de Soret. Si la position de la bande de Soret est peu influencée par la fonctionnalisation du macrocycle, la région spectrale située dans le domaine du visible est généralement sensible aux variations de structure et renseigne sur la substitution du macrocycle. En effet, les bandes Q voient leurs intensités relatives et leur position varier notablement en fonction de la nature et de la position des substituants du métal,²¹ de son degré d'oxydation, des ligands additionnels en position axiale et du solvant.

II.4 Méthodes de synthèse des porphyrines

Malgré leur abondance dans le milieu naturel et leur stabilité, les porphyrines sont des molécules relativement difficiles à synthétiser. Ceci est dû à la réactivité particulière du pyrrole et à divers phénomènes de réarrangement ou de statistique durant la synthèse. De nombreux facteurs restent difficiles à contrôler et à l'heure actuelle, mis à part quelques cas particuliers de porphyrines très symétriques, les rendements sont de l'ordre de 20% pour l'étape de cyclisation de la porphyrine.

Dans cette partie, nous développerons les différentes méthodes de synthèse des porphyrines *meso*-substituées et β -substituées. Les porphyrines *meso*-substituées n'ont pas d'équivalents naturels mais sont plus faciles à synthétiser, tandis que la structure des β -substituées sont plus proches des composés naturels.

II.4.1 Les porphyrines *meso*-substituées

Plusieurs méthodes sont accessibles pour la synthèse des porphyrines et peuvent être classées en différentes catégories.

Les premières porphyrines *meso*-substituées ont été synthétisées par Rothmund dès 1935 par réaction de condensation entre le benzaldéhyde et le pyrrole dans le méthanol.²² La *meso*-tétraméthylporphyrine a été ainsi obtenue avec de très faibles rendements. Dans les mêmes conditions opératoires, en utilisant un nombre varié d'aldéhydes, il a synthétisé diverses porphyrines comportant des substituants tels que des groupements propyles, butyles ou phényles. En 1941, Rothmund améliore ces très faibles rendements en faisant réagir les réactifs à 220 °C dans une ampoule scellée (Schéma 1).²³ Il a obtenu la *meso*-tétraphénylporphyrine avec un

rendement de l'ordre de 5%. Dans la plupart des cas, les synthèses de ce type donnaient lieu à un second produit de structure très proche. Ce produit sera identifié plus tard comme étant une chlorine. La méthode développée par Rothmund est donc une réaction à haute concentration et à haute température en absence d'oxydant dans un réacteur scellé.

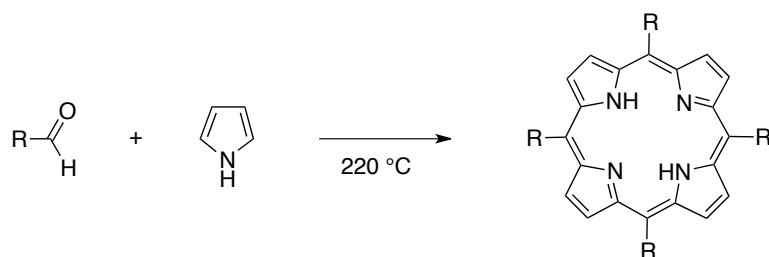


Schéma 1 : Méthode de Rothmund.²³

En 1967, Alder et Longo ont ensuite amélioré de manière significative la synthèse des porphyrines par condensation d'aldéhyde et de pyrrole dans l'acide propanoïque à reflux dans un réacteur ouvert à l'air libre (Schéma 2).²⁴ Dans certains cas, les rendements décrits sont relativement bons, de l'ordre de 30 à 40%. Cette synthèse consiste d'abord en la formation du porphyrinogène qui est ensuite oxydé pour former la porphyrine correspondante. Grâce à plusieurs études pour améliorer le rendement de cette méthode de synthèse, plusieurs paramètres importants ont été identifiés.²⁵ L'oxygène joue un rôle prépondérant puisque sous atmosphère d'azote, les rendements chutent fortement. La concentration idéale se situe aux alentours de 0,05 M. Le choix de l'acide (acide acétique, propanoïque ou butyrique) joue un rôle central puisqu'il influe sur la vitesse de réaction et a pour rôle de catalyser la réaction.

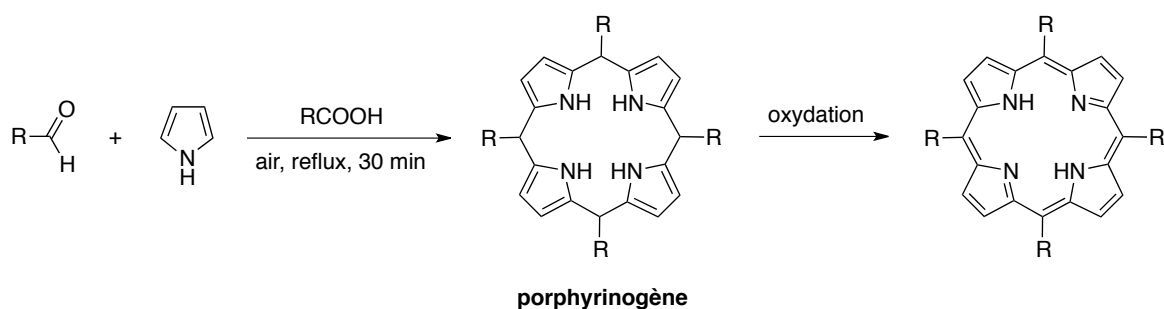


Schéma 2 : Méthode d'Alder et Longo.²⁴

D'autres méthodes beaucoup plus douces ont ensuite été mises au point afin d'utiliser un plus grand nombre d'aldéhydes plus sensibles. Au cours des années 80, Lindsey a ainsi pu former le porphyrinogène par catalyse acide, généralement de l'acide trifluoroacétique ou de l'étherate de BF_3 , $BF_3(OEt_2)$, en conditions inertes et diluées (à 10 mM dans le dichlorométhane). Ce porphyrinogène est ensuite oxydé *in situ* en porphyrine par action d'un oxydant tel que le 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone (DDQ) ou le *p*-chloranile (Schéma 3).²⁶⁻²⁸ Les porphyrines issues de cette réaction sont obtenues avec des rendements de l'ordre de 30 à 40%.

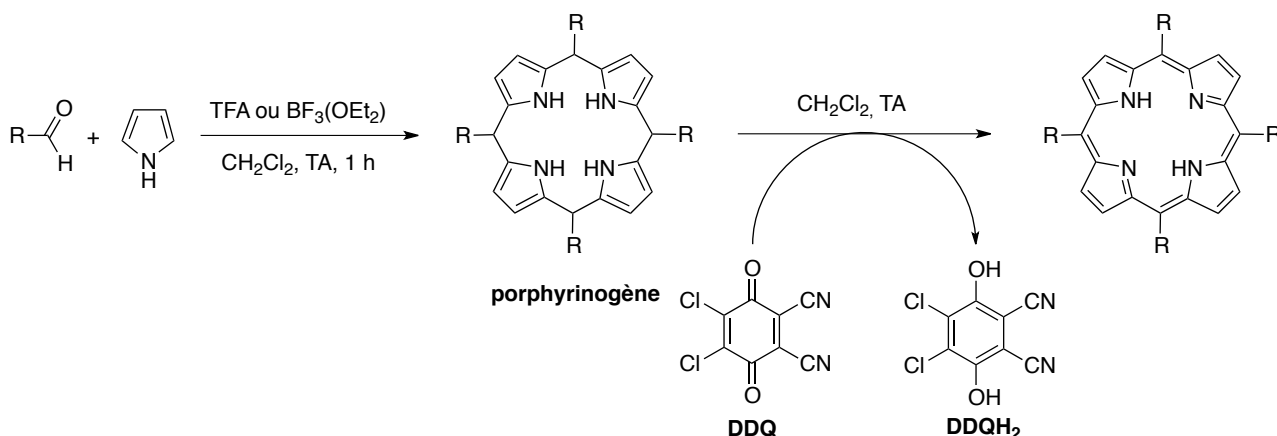


Schéma 3 : Méthode de Lindsey.²⁶⁻²⁸

En 1975, Little *et al.* ont adapté la méthode d'Alder et Longo à la synthèse de *meso*-arylporphyrines non symétriques. Cette méthode, dite *des aldéhydes mixtes*, consiste à condenser dans l'acide propanoïque à reflux du pyrrole et deux aldéhydes différents (Schéma 4).²⁹ En fonction des proportions de réactifs employées, la réaction conduit à la formation de porphyrines substituées par un, deux, trois ou quatre groupements identiques. Cependant, la séparation des différents composants sur colonne chromatographique peut s'avérer fastidieuse. En pratique, le rendement en porphyrine n'excède jamais 7%.

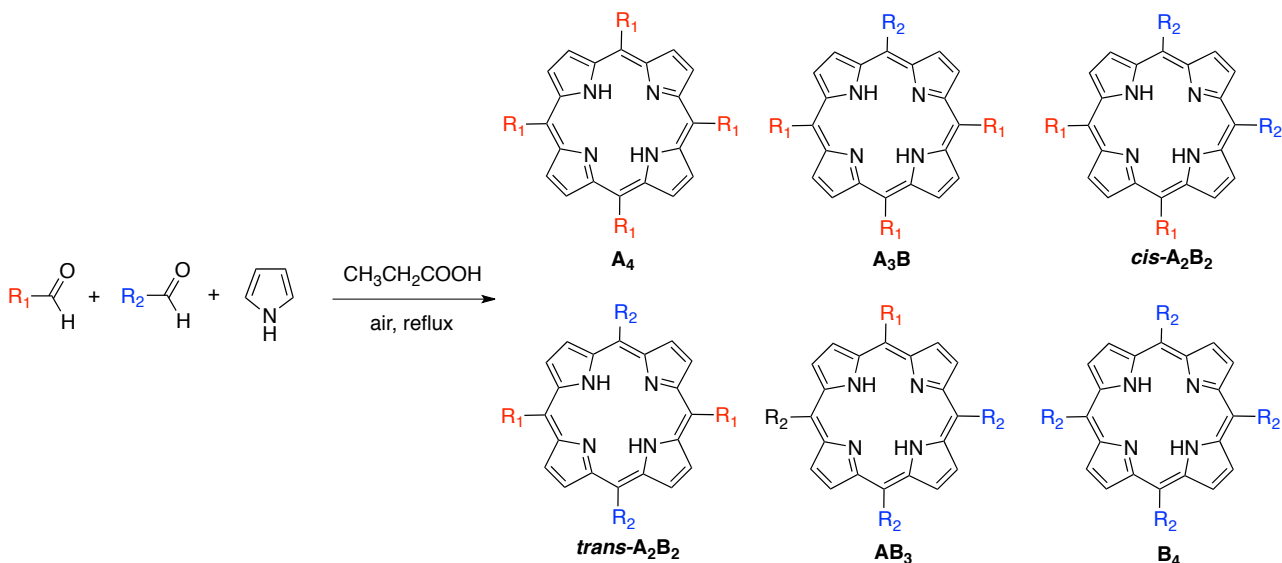


Schéma 4 : Méthode des aldéhydes mixtes par Little *et al.*²⁹

Pour éviter la formation de tels mélanges, MacDonald *et al.* ont décrit une voie de synthèse plus ciblée en trois temps (Schéma 5).³⁰ La première étape est la synthèse d'un dipyrrométhane qui résulte de la réaction d'un aldéhyde avec un excès de pyrrole catalysée par un acide. Ensuite, le dipyrrométhane réagit avec un aldéhyde en milieu acide pour former un porphyrinogène. Il est également possible de mettre en jeu plusieurs aldéhydes et plusieurs dipyrrométhanes dans la même réaction, dite de *condensation [2+2] de MacDonald*. Le milieu est neutralisé et le porphyrinogène est oxydé en porphyrine. Le principal inconvénient de ce type de condensation est la formation de mélanges d'isomères qui peuvent se révéler très difficiles à séparer, conduisant à une diminution du rendement, si un seul des isomères est désiré. Cependant, cette technique offre souvent les meilleurs rendements et conduit en général à des mélanges plus aisés à séparer que la méthode des aldéhydes mixtes.

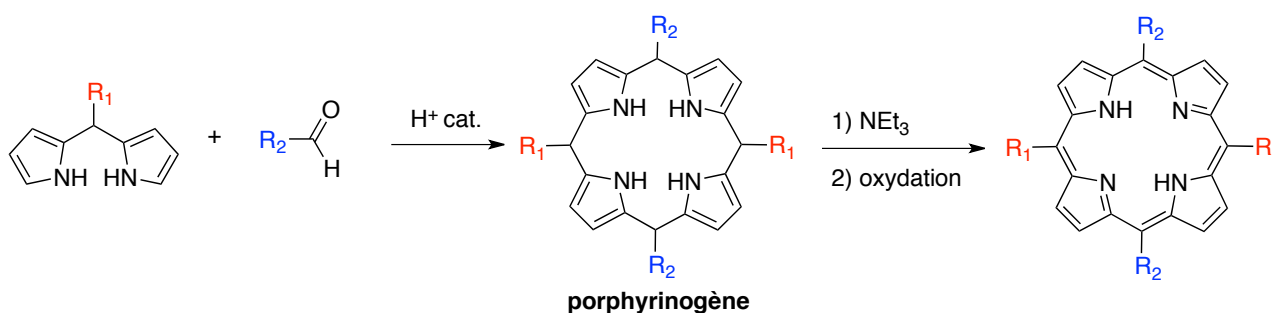


Schéma 5 : Méthode de MacDonald.³⁰

II.4.2 Les porphyrines β -substituées

L'introduction de groupements sur les positions β -pyrroliques d'une porphyrine implique de préparer des précurseurs pyrroliques déjà fonctionnalisés. Au niveau des précurseurs, il s'agit soit de pyrroles simples, de dipyrrométhanones ou d'assemblages plus complexes comme par exemple les *a,c*-biladiènes qui sont des oligomères de quatre pyrroles (Schéma 8).

Pour obtenir une porphyrine substituée par des fonctions différentes de manière contrôlée, il convient de construire le macrocycle étape par étape grâce à des méthodes de synthèse de pyrroles largement étudiées dans la bibliographie.

Par exemple, la méthode de Knorr permet d'obtenir des pyrroles hautement fonctionnalisés à partir de substrats relativement simples (Schéma 6).^{31,32} La réaction décrite par Knorr en 1884 est le mélange stœchiométrique d'acétoacétate d'éthyle et d'une oxime (avec un chauffage à reflux), préparée préalablement par un traitement au nitrite de sodium, qui est réduit par du zinc dans de l'acide acétique. Un rendement de l'ordre de 75% est obtenu.

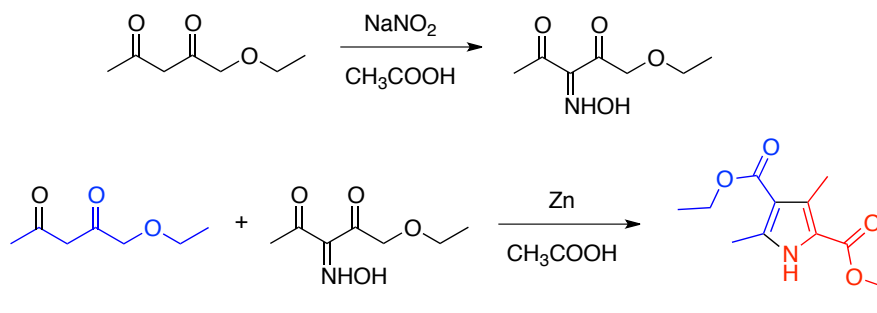


Schéma 6 : Synthèse d'un pyrrole tétrasubstitué selon la méthode de Knorr.^{31,32}

La méthode de Barton-Zard est une autre méthode importante qui permet également de synthétiser des pyrroles (Schéma 7).³³ Elle met en jeu un nitroacétate qui après départ du groupement acétate en présence de base va former un nitroalcène. Ce dernier réagit ensuite avec un dérivé isocynoacétate pour former, après cyclisation et départ du groupement nitro NO_2 , le pyrrole désiré.

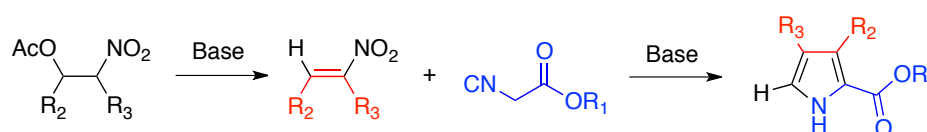


Schéma 7 : Synthèse de pyrrole selon la méthode de Barton-Zard.³³

Ces différentes méthodes de synthèse donnent accès à de nombreux pyrroles fonctionnalisés qui peuvent être utilisés pour former des précurseurs qui sont généralement des oligomères de pyrroles constitués de deux à quatre entités pyrroliques et qui pourront être cyclisés pour former des porphyrines (Schéma 8).³⁴

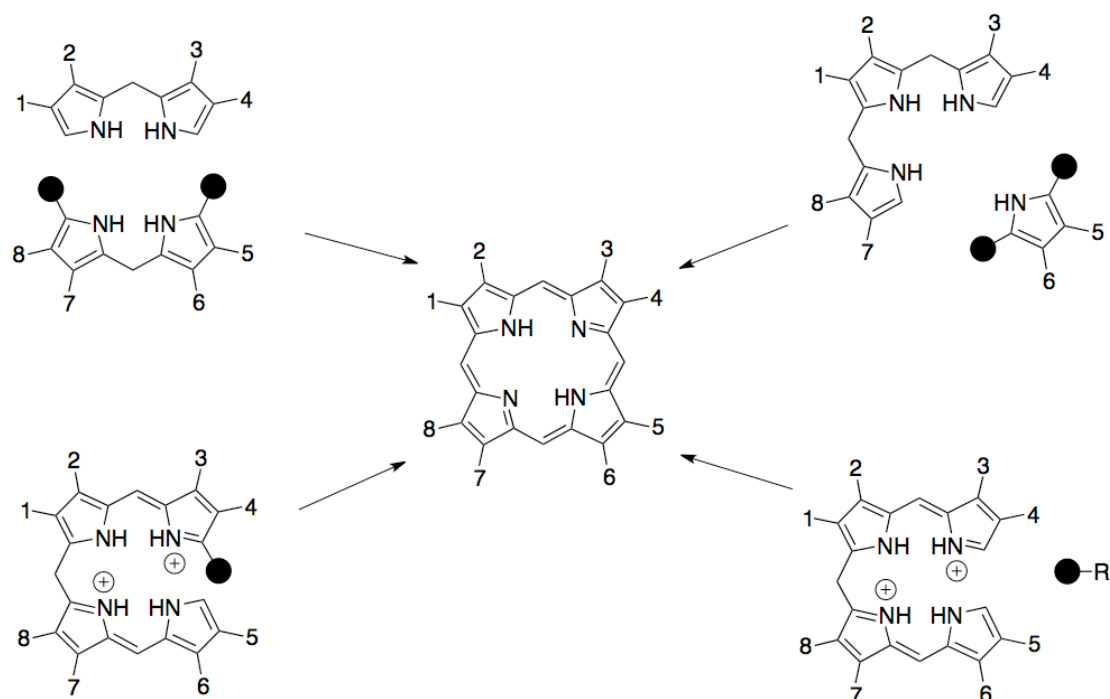


Schéma 8 : Les différentes méthodes envisageables pour la synthèse d'une porphyrine à partir de précurseurs oligopyrroliques. D'après *The Porphyrin Handbook*.³⁴

III. SYNTHÈSES DES PORPHYRINES UTILISÉES

III.1 Synthèse de la porphyrine A₃B phénol métallée au zinc

La synthèse d'une porphyrine monofonctionnalisée de type A₃B a été synthétisée par la réaction de condensation [2+2] de MacDonald.³⁰ L'avantage de l'utilisation de cette méthode est l'obtention d'une porphyrine monofonctionnalisée en position *meso* en une seule étape et évite la formation de mélanges. Les précurseurs mis en jeu dans la synthèse de la porphyrine A₃B sont le dipyrrométhane substitué sur le carbone du pont et deux aldéhydes.

La première étape est la synthèse du *p*-tolylidipyrrométhane **3** qui résulte de la réaction, sous atmosphère inerte, du tolualdéhyde avec un excès de pyrrole catalysée par l'acide trifluoroacétique (Schéma 9). Elle est réalisée selon la méthode de Lindsey *et al.*.³⁵ Après purification, une poudre beige est isolée avec un rendement de 93%.

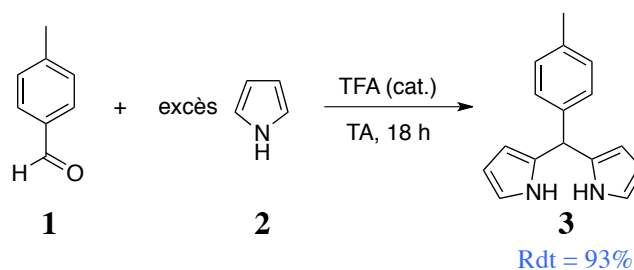


Schéma 9 : Synthèse du *p*-tolyldipyrrrométhane 3.

Le 4-hydroxybenzaldéhyde est ensuite esterifié avant d'effectuer la réaction de cyclisation de la porphyrine. Pour cela, du chlorure de chloroacétyl a été utilisé.^{36,37} Ainsi, en présence de triéthylamine, les deux réactifs ont été mis en solution dans le THF durant 1 h à température ambiante (Schéma 10). Une huile jaune a été obtenue avec un rendement de 99%.

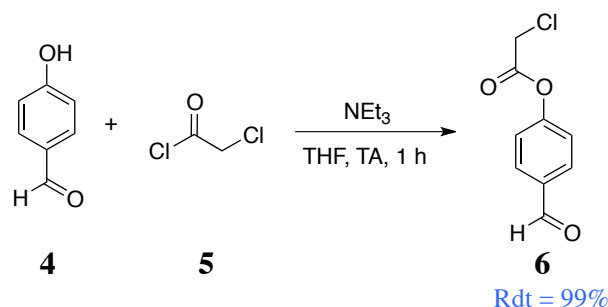


Schéma 10 : Synthèse du 4-chloroacétoxybenzaldéhyde 6.

Pour former le porphyrinogène, le *p*-tolyldipyrrrométhane **3**, les aldéhydes 4-chloroacétoxybenzaldéhyde **6** et tolualdéhyde sont mis en présence d'une quantité catalytique de $\text{BF}_3(\text{Et}_2\text{O})$. Ce porphyrinogène est ensuite oxydé par l'addition du *p*-chloranil pour synthétiser la porphyrine A_3B . Le principal inconvénient de cette condensation est la séparation des différents mélanges d'isomères obtenus (TTP pour tétratolylporphyrine, les porphyrines mono et difonctionnalisées). Ce mélange de porphyrines a été métallé au zinc afin de faciliter les purifications. Pour cela, des acétates de zinc et de sodium solubilisés dans le méthanol ont été ajoutés à la solution contenant les différentes molécules dans le chloroforme (Schéma 11). Le mélange réactionnel est chauffé à 80 °C durant 2 h. Les analyses spectrométriques de masse MALDI-TOF du brut réactionnel montrent que la métallation au zinc a été effectuée avec «déprotection» de la fonction phénol. La monophénolporphyrine métallé au zinc **8** a été isolée avec un rendement de 43%.

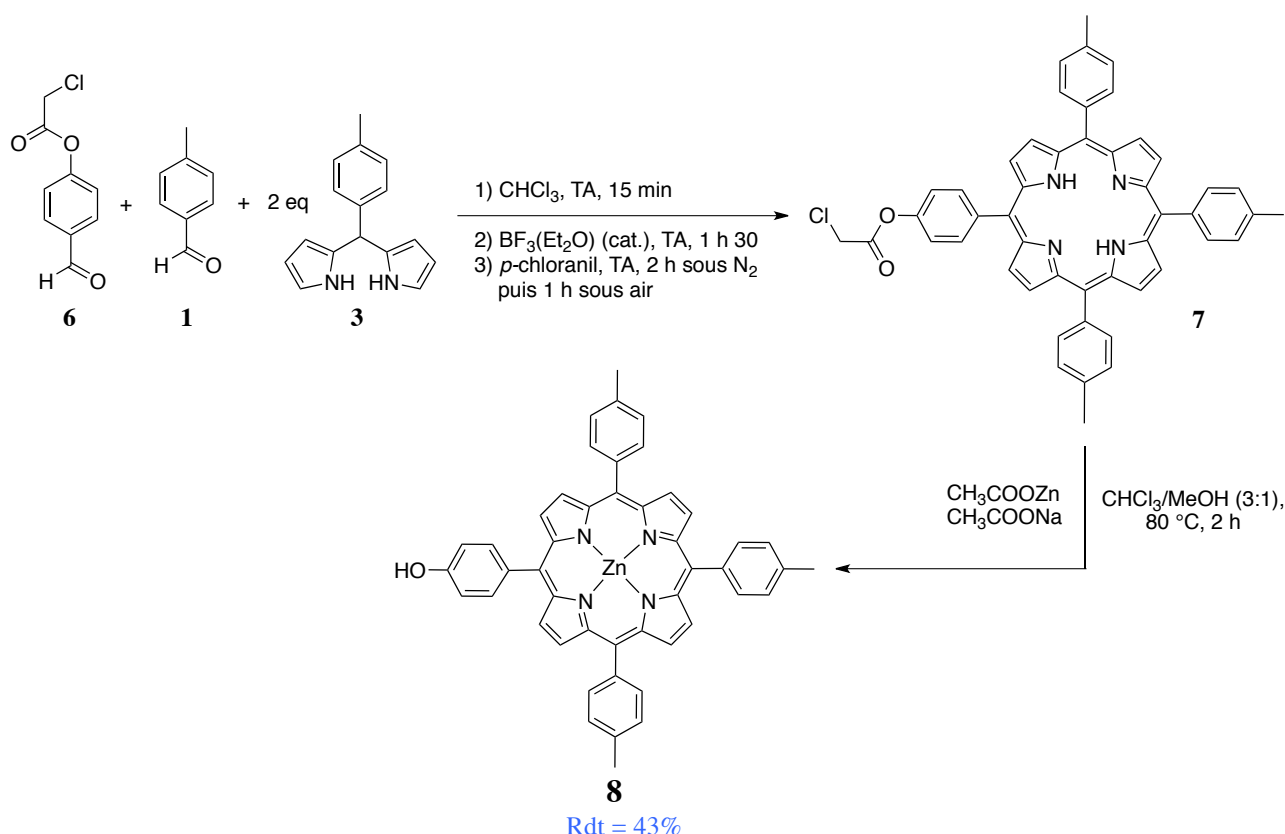


Schéma 11 : Synthèse en deux étapes de la monophénolporphyrine de zinc 8.

À partir de la synthèse des précurseurs *p*-tolyldipyrrrométhane **3** et 4-chloroacétoxybenzaldéhyde **6**, un rendement global de 40% pour les quatre étapes a été obtenu. Ce rendement est très élevé pour la synthèse d'une porphyrine. De plus, la porphyrine **8** a été synthétisée à l'échelle du gramme.

III.2 Synthèse de la porphyrine A₃B benzoate base libre

La synthèse d'une porphyrine monofonctionnalisée de type A₃B benzoate base libre a été réalisée par une réaction de condensation [2+2] de MacDonald.³⁰

Pour former le porphyrinogène, le *p*-tolyldipyrrrométhane **3**, les aldéhydes méthyl-4-formylbenzoate **9** et tolualdéhyde **1** sont mis en présence d'une quantité catalytique de $\text{BF}_3(\text{Et}_2\text{O})$. Ce porphyrinogène est ensuite oxydé par l'addition du *p*-chloranil pour synthétiser la porphyrine A₃B. Après purification sur colonne chromatographique sur gel de silice, un rendement de 22% a été obtenu pour le composé **10**. Une saponification en milieu basique (KOH) a permis ensuite de transformer l'ester méthylé **10** en un ion carboxylate **11**. La réaction a été réalisée dans un mélange THF/MeOH (2:1) à 60 °C durant 16 h (Schéma 12). La monocarboxylateporphyrine base libre a été isolée avec un rendement de 71%.

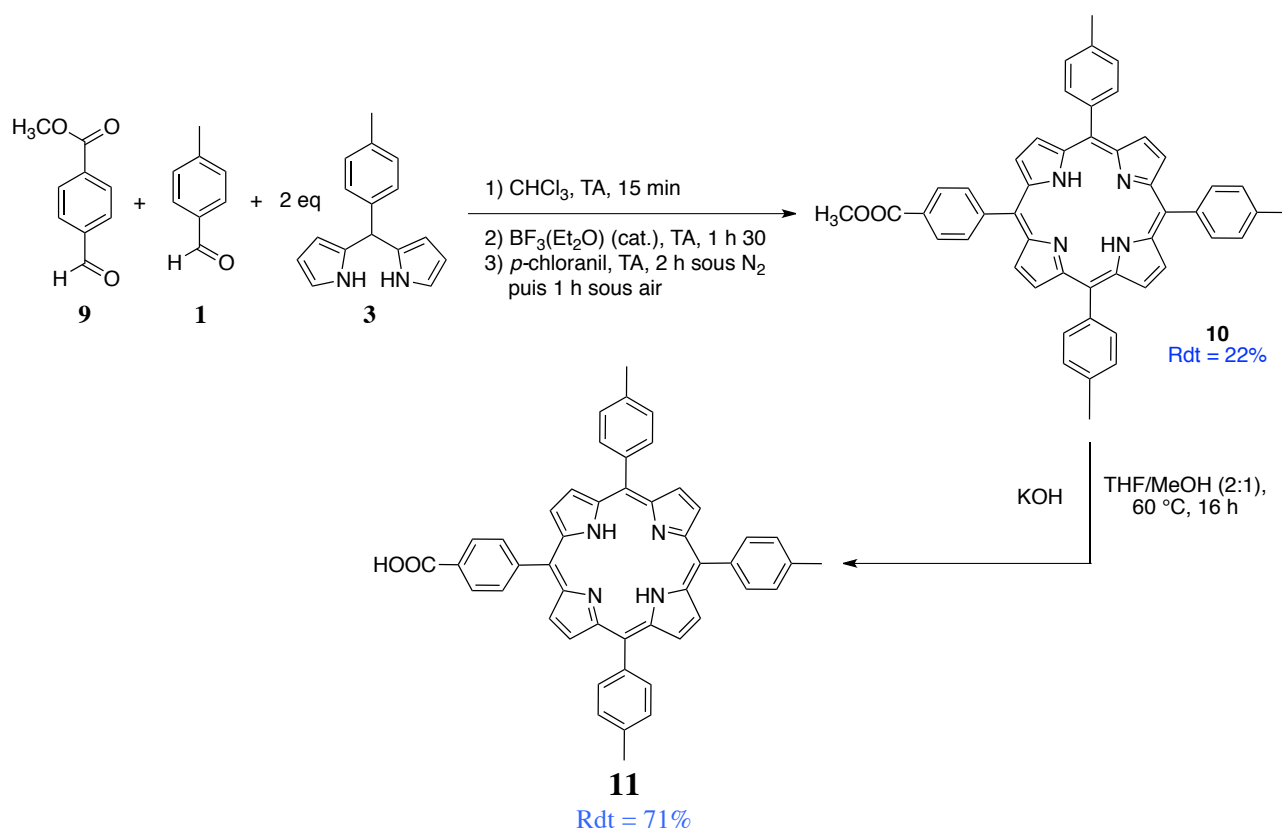


Schéma 12 : Synthèse en deux étapes de la monobenzoateporphyrine base libre 11.

À partir de la synthèse du précurseur *p*-tolylaldipyrrométhane **3**, un rendement global de 15% pour les trois étapes a été obtenu.

III.3 Synthèse de la porphyrine β -substituée phénylacétylène métallée au zinc

III.3.1 Synthèse de l'*a,c*-biladiène

Parmi les différentes voies d'accès, la synthèse de la porphyrine β -substituée phénylacétylène a été réalisée par l'intermédiaire d'un *a,c*-biladiène **21** (composé tétrapyrrolique non cyclisé). Ce choix repose sur le rendement de cyclisation élevé, jusqu'à 90% pour certains aldéhydes,³⁸ et sur la relative facilité de purification (les produits secondaires de la réaction sont généralement des polymères pyrroliques et des corroles qui peuvent se former par cyclisation intramoléculaire). De plus, cette synthèse est bien connue et maîtrisée dans notre équipe.

L'*a,c*-biladiène **21** est obtenu, selon une approche convergente, par condensation du dipyrrométhane disubstitué par deux groupements formyles **18** et du pyrrole acide **20** (Schéma 13). Cette réaction doit être très rapide, environ 15 min, dans le but d'éviter la formation de corroles. Le composé **18** a été synthétisé en plusieurs étapes en utilisant la méthode de Knorr et celle de Clezy.^{31,32} Le composé **20** est obtenu par saponification du pyrrole ester **19**. La synthèse du pyrrole ester a été effectuée selon la méthode de Barton-Zard.³³

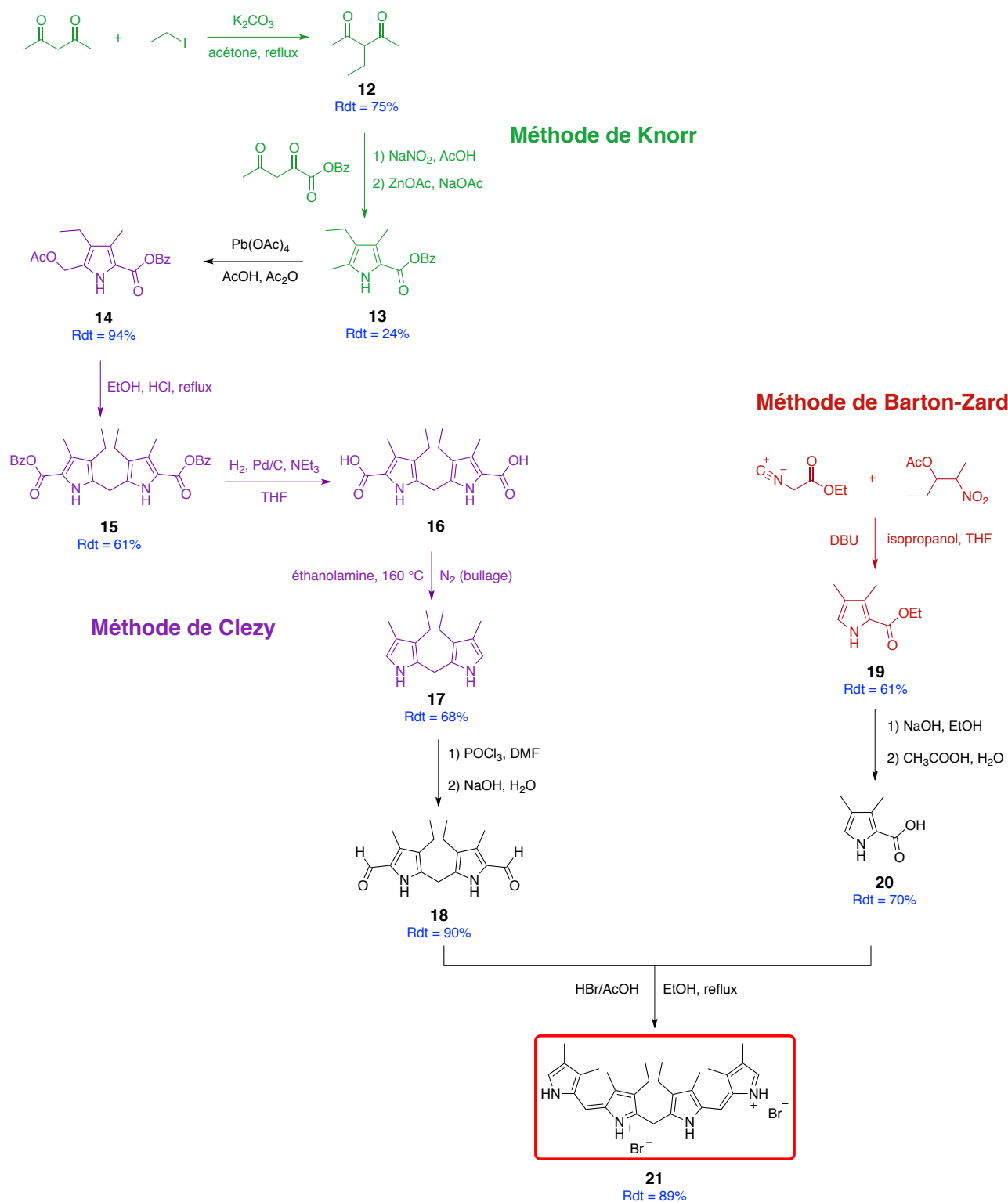


Schéma 13 : Synthèse de l'*a,c*-biladiène 21.

III.3.2 Synthèse de la *meso-p*-phénylacétylène porphyrine

La condensation de l'*a,c*-biladiène **21** sur un équivalent de 4-((triméthylsilyl)éthynyl)benzaldéhyde conduit à la formation de la porphyrine alcyne silylée base libre. La condensation a été effectuée au reflux de l'éthanol par addition lente (à l'aide d'une pompe péristaltique) de l'acide *p*-toluènesulfonique en solution dans l'éthanol. L'ajout progressif de l'acide vise à limiter la formation du corrole, issu de la cyclisation de l'*a,c*-biladiène **21** sur lui-même. Le brut réactionnel a

été ensuite repris dans le chloroforme et un excès d'acétates de zinc et de sodium a été ajouté (Schéma 14). La porphyrine alcyne silylée **23** a pu être isolée avec un rendement de 26%. La formation de la porphyrine **23** a été mise en évidence par spectroscopie UV-Visible, par spectroscopie RMN ^1H et par spectrométrie de masse.

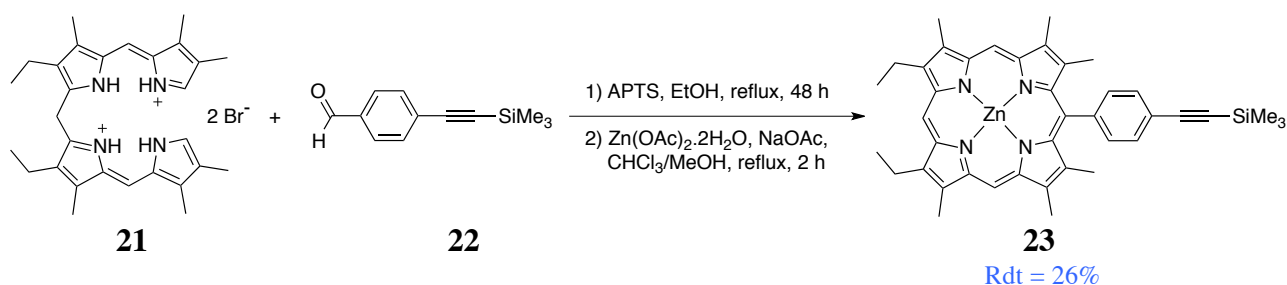


Schéma 14 : Synthèse de la porphyrine alcyne silylée et métallée au zinc **23**.

L'étape suivante consiste en la déprotection de la fonction alcyne. Pour cela, du fluorure de tétra-*n*-butylammonium TBAF a été employé. La déprotection a été réalisée par ajout goutte à goutte du TBAF dans la solution de porphyrine **23** dans le tétrahydrofurane à température ambiante (Schéma 15). Après 12 h d'agitation, la porphyrine alcyne vrai métallée au zinc **24** a été isolée avec un rendement de 72%.

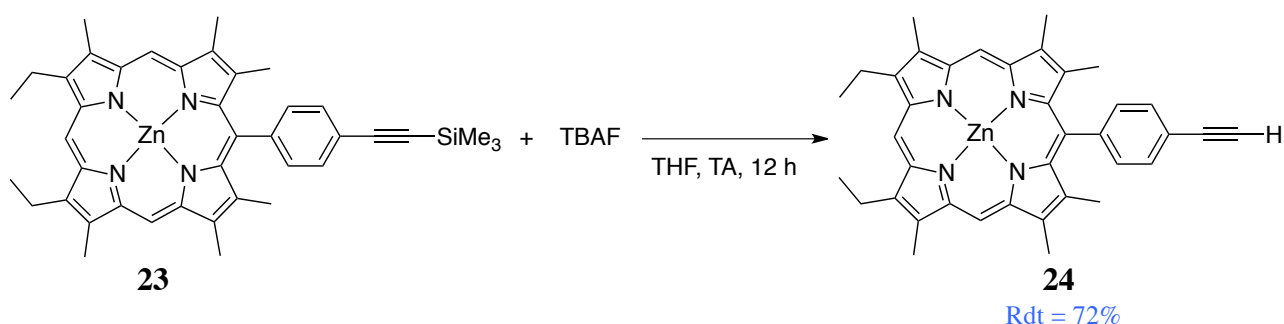


Schéma 15 : Synthèse de la porphyrine alcyne vrai métallée au zinc **24**.

IV. SYNTHÈSE DE COMPLEXES TITANOCÈNE « MODÈLES »

La synthèse des porphyrines fonctionnalisées de types porphyrines phénol, acide carboxylique et phénylacétylène nécessite plusieurs étapes de synthèse et conduit aux produits avec des rendements globaux modestes. Afin d'économiser au maximum des « précieux » composés, la complexation des porphyrines sur le métalloène n'a pas été directement réalisée. Nous avons donc dans un premier temps mis au point les conditions réactionnelles à partir de dichlorure de titanocène et de phénol, d'acide benzoïque et de phénylacétylène.

IV.1 Synthèse de complexes bisphénoxytitanocène

Le ligand phénol est utilisé dans un premier temps dans le but de valider des composés modèles de type $\text{Cp}_2\text{Ti}(\text{OPh})_2$. Ces complexes ont été préparés selon différents modes opératoires et à partir de

différents complexes de titane (Cp_2TiCl_2 , Cp_2TiMe_2 , $[\text{Cp}_2\text{Ti}]$). Toutes les synthèses contenant un complexe de titane ont été réalisées sous argon par la technique du Schlenk.

IV.1.1 Synthèse à partir de Cp_2TiCl_2

Les complexes bisphénoxy ou monophénoxytitanocène sont bien connus dans la bibliographie. Ils sont synthétisés par addition d'un ou de deux phénates sur le dichlorure de titanocène. Pour obtenir le ligand phénate, plusieurs bases plus ou moins fortes ont été utilisées : de la triéthylamine NEt_3 ,^{39,40} de l'amidure de sodium NaNH_2 ,^{39,41,42} de l'hydruure de sodium NaH ^{40,42,43} et du butyllithium BuLi .^{43,44}

IV.1.2 En présence de NEt_3 et de NHET_2

La triéthylamine a été choisie dans un premier temps car elle est relativement peu basique par rapport aux autres bases mentionnées ci-dessus et devrait permettre lors de la synthèse des complexes titane-porphyrine d'éviter la déprotonation des *NH* pyrroliques et/ou la démétallation de la porphyrine. La synthèse a été réalisée par ajout goutte à goutte de la triéthylamine dans une solution contenant un mélange de Cp_2TiCl_2 et de phénol dans le dichlorométhane à température ambiante (Schéma 16).

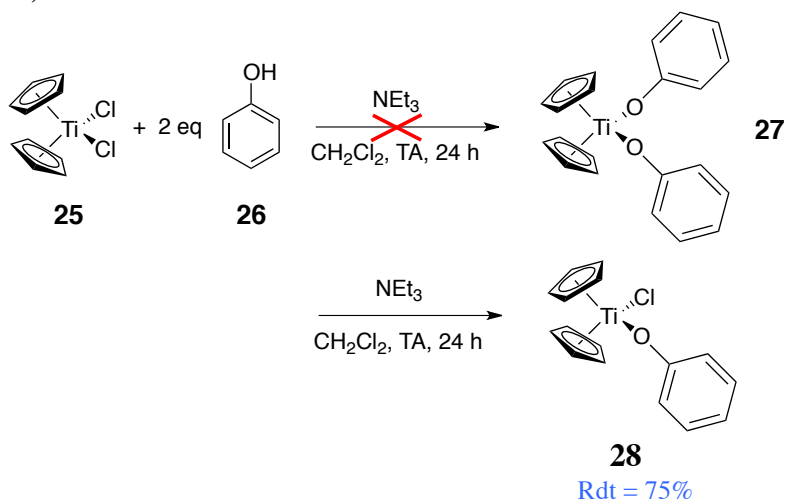


Schéma 16 : Essai de synthèse du complexe bisphénoxytitanocène 27 en présence de triéthylamine.

Un suivi réactionnel par spectroscopie RMN ^1H dans le CD_2Cl_2 (300,13 MHz, 300 K) a été réalisé. Après 4 h d'agitation, 70% de précurseur de titane Cp_2TiCl_2 et 30% de complexe monosubstitué $\text{Cp}_2\text{TiCl}(\text{OPh})$ 28 ont été observés. Afin de compléter la réaction, le milieu réactionnel a été agité toute la nuit sous argon. Le spectre RMN ^1H nous indique la formation du complexe $\text{Cp}_2\text{TiCl}(\text{OPh})$ 28. En effet, par comparaison avec la bibliographie,⁴⁰ un blindage des signaux correspondant aux cyclopentadiényles (Cp) de $\delta = 6,58$ ppm à $\delta = 6,38$ ppm a été observé ($\Delta\delta = 0,2$ ppm). Pour le complexe $\text{Cp}_2\text{Ti}(\text{OPh})_2$ 27, le déplacement chimique du Cp se situe à $\delta = 6,28$ ppm dans le CDCl_3 .⁴⁰ Un blindage des protons correspondant au phénol a également été observé. Ces observations montrent que malgré l'ajout de deux équivalents de ligands phénoliques sur le dérivé du titane et après 24 h, seul le complexe monosubstitué a été formé. Jones *et al.* ont également décrit la formation du dérivé monosubstitué malgré l'ajout de deux équivalents de phénol et un reflux du toluène.⁴⁰ Ils mentionnent que la deuxième substitution du chlore est plus difficile et ont utilisé un hydruure pour réaliser la double substitution. Pour autant, une autre équipe a décrit la formation du complexe bisphénoxytitanocène en présence de la triéthylamine, la deuxième substitution du chlore

du titanocène par le phénate s'effectuant très lentement (au bout de 48 h) (Schéma 17).³⁹ Nous avons réalisé la réaction dans les conditions identiques. Après 48 h, une quantité infime de complexe bisphénoxytitanocène a été obtenue par rapport au dérivé monosubstitué. Le spectre RMN ^1H dans le CD_2Cl_2 indique une quantité de l'ordre de 10% pour le complexe disubstitué et 90% pour le monosubstitué.

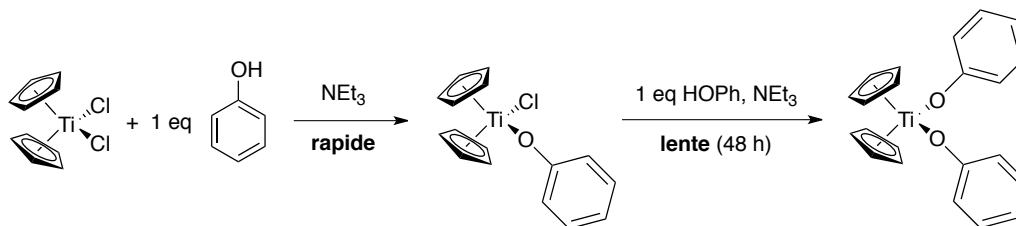


Schéma 17 : Schéma réactionnel pour la synthèse en deux étapes du bisphénoxytitanocène en présence de triéthylamine d'après la bibliographie.³⁹

En 2008, l'équipe de Lang *et al.* a développé une série de complexes monosubstitués alkoxy- et aryloxy-titanocène de type $[\text{Ti}](\text{Cl})(\text{OR})$ par ajout d'un équivalent du précurseur dichlorotitanocène et un équivalent de l'alcool correspondant en présence de la diéthylamine (Schéma 18).⁴⁵ Cette amine secondaire, plus basique, a permis d'obtenir des temps réactionnels plus courts et a conduit à des rendements plus élevés. Il apparaît également que le sel d'ammonium $[\text{Et}_2\text{NH}_2]\text{Cl}$ est plus facile à éliminer car moins soluble que le sel de la triéthylamine.

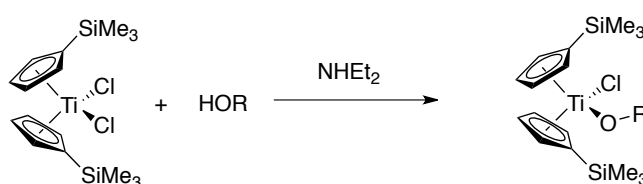


Schéma 18 : Synthèse de complexes monosubstitués alkoxy- et aryloxy-titanocène développés par Lang *et al.*⁴⁵

Nous avons donc envisagé d'utiliser cette amine afin de favoriser la formation du complexe bisphénol titanocène. Pour cela, le complexe Cp_2TiCl_2 et deux équivalents de phénol ont été mis en solution dans le dichlorométhane avec un excès de diéthylamine. Un suivi par spectroscopie RMN ^1H a été réalisé dans le CD_2Cl_2 . Après 4 h d'agitation du milieu réactionnel à température ambiante, un ratio 85/15 monophénoxy/bisphénoxytitanocène a été observé par intégration des protons cyclopentadiényles. Après 24 h, la formation du complexe disubstitué a très peu évolué. Afin de favoriser la synthèse de ce dernier, la réaction a été effectuée à reflux du THF durant une nuit. Le spectre RMN ^1H dans le CD_2Cl_2 montre un ratio 90/10 monophénoxy/bisphénoxytitanocène. Nous avons alors envisagé d'augmenter la polarité du milieu réactionnel en utilisant un mélange THF/tBuOH. Les résultats spectroscopiques sont identiques aux précédents. Un dernier essai a été réalisé en effectuant la réaction dans un premier temps en présence d'un équivalent de phénol puis une deuxième équivalence de phénol en présence de la diéthylamine a alors été additionnée sur le complexe phénoxytitanocène isolé (Schéma 19). L'analyse spectroscopique RMN ^1H effectué sur un prélèvement réalisé après 4 h de réaction montre que seulement 10% de complexe est formé dans ces conditions.

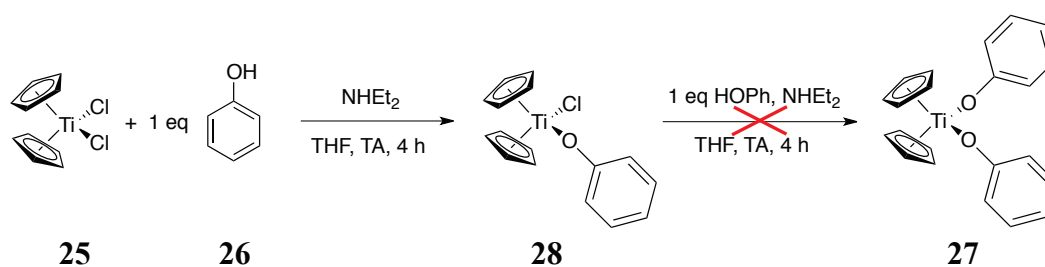


Schéma 19 : Schéma réactionnel pour la synthèse en deux étapes du bisphénoxytitanocène 27 en présence de diéthylamine.

Afin d'évaluer un rendement, les deux réactifs ont été ajoutés en quantité stœchiométrique dans le THF. Le composé monophénoxytitanocène **28** a été obtenu après 4 h à température ambiante avec un rendement de 92% (Figure 10). Il est stable à l'air et à l'oxygène.

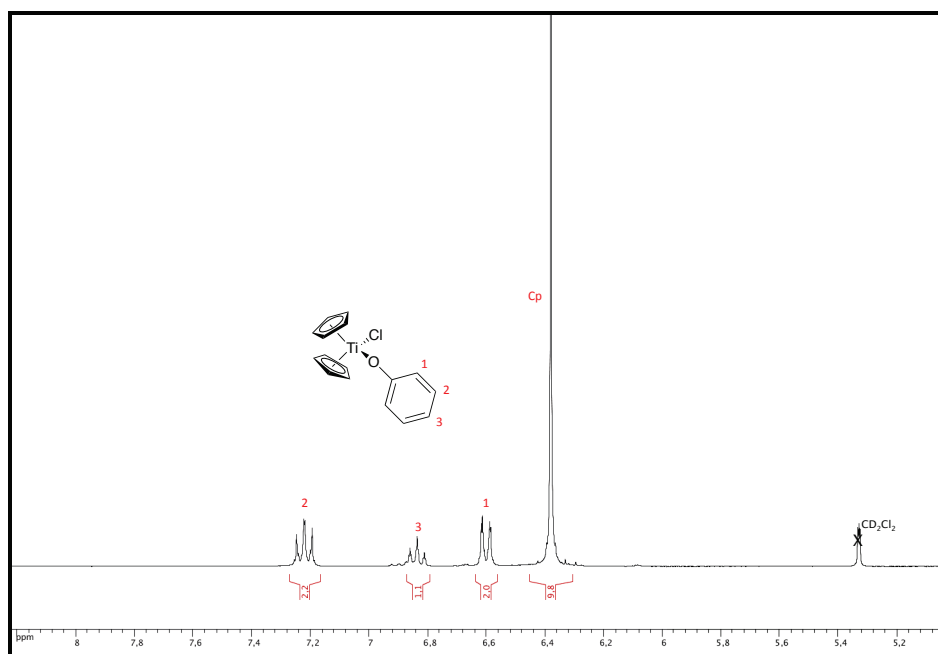


Figure 10 : Spectre RMN ^1H du complexe 28 dans CD_2Cl_2 (300,13 MHz, 300 K).

IV.1.3 En présence de différentes bases

Différentes bases telles que K_2CO_3 , DBU, tBuONa , NaOH ont alors été testées pour favoriser la formation du complexe bisphénoxytitanocène. Cependant, malgré les nombreuses tentatives, nous n'avons pas été en mesure d'isoler le complexe cible.

Nous avons alors décidé d'utiliser un hydrure. L'utilisation d'un hydrure de sodium NaH pour la complexation des phénates sur le titanocène est connue dans la bibliographie.^{40,42,43} Par exemple, Tirouflet *et al.* ont substitué un ligand Cl par un groupe aryloxy en partant des substrats $\eta^5\text{-Cp-}\eta^5\text{-Cp}'\text{TiCl(OPh)}$ qui présentent une chiralité planaire sur le noyau Cp' . Dans la seconde étape, ils ont substitué l'un des groupes aryloxy des complexes $\eta^5\text{-Cp-}\eta^5\text{-Cp}'\text{Ti(OPh')}(OPh)$ sous l'action de HCl avec une bonne sélectivité (Schéma 20).⁴²

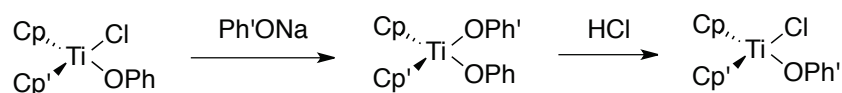


Schéma 20 : Synthèse développée par Tirouflet *et al.*.⁴²

En 1991, Jones *et al.* ont synthétisé le complexe $\text{Cp}_2\text{Ti}(\text{OPh})_2$ par addition de deux équivalents de phénate de sodium sur le dichlorure de titanocène.⁴⁰ Nous avons alors réalisé l'addition de deux équivalents de phénate dans les conditions décrites par Jones *et al.* (Schéma 21). L'analyse RMN ^1H du brut réactionnel montre que le dérivé bisphénoxytitanocène est formé majoritairement dans un ratio 82/18 par rapport au complexe monophénoxytitanocène. Le complexe cible **27** a été obtenu sous la forme d'une poudre orange avec un rendement de 66% après purification sur colonne chromatographique sur gel de silice.

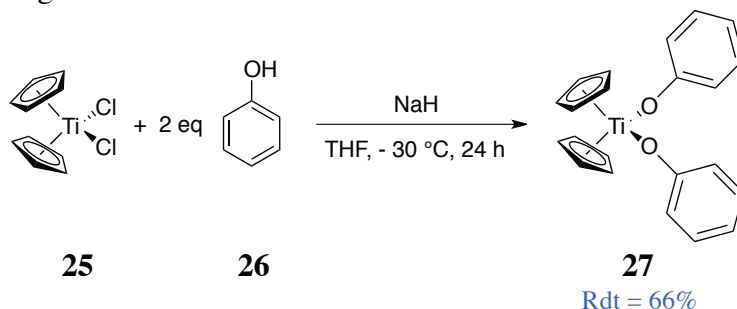


Schéma 21 : Synthèse du complexe bisphénoxytitanocène **27** en présence d'hydruure de sodium.

La pureté du composé **27** a été mise en évidence par spectrométrie RMN ^1H (Figure 11). Le déplacement chimique caractéristique des protons cyclopentadiényles apparaît à $\delta = 6,30$ ppm indiquent la condensation de deux phénates de sodium sur le dichlorure de titanocène. Le blindage des protons phényles des phénols confirme ce résultat.

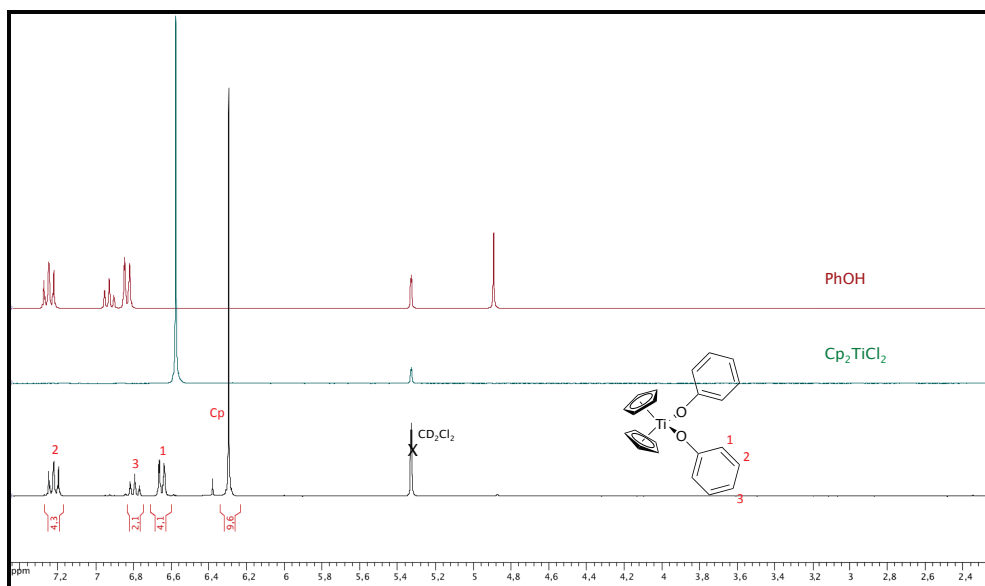


Figure 11 : Spectre RMN ^1H du complexe **27** dans CD_2Cl_2 (300,13 MHz, 300 K).

Une analyse par spectrométrie de masse haute résolution ESI-MS a été combinée à l'analyse RMN ^1H afin d'évaluer la formation et la pureté du composé **27**. Le spectre a montré la présence d'un seul amas isotopique correspondant au composé $[\text{M}+\text{Na}]^+$ à $m/z = 387,09$ Da (Figure 12).

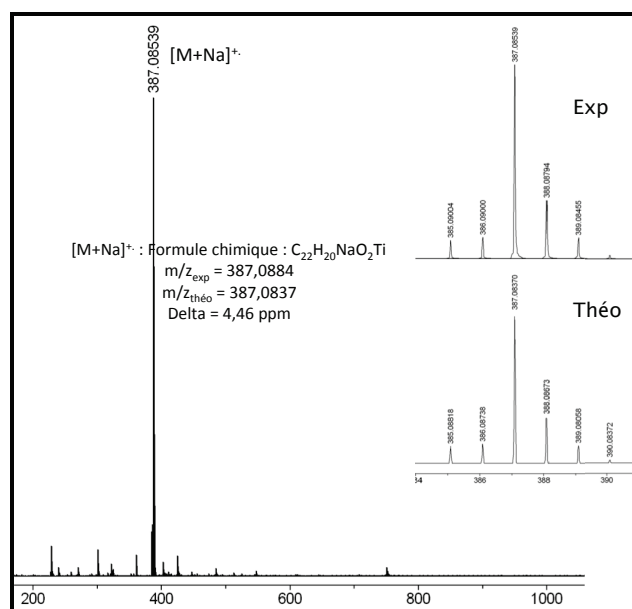


Figure 12 : Analyse de spectrométrie de masse haute résolution ESI du composé 27.

Les complexes $\text{Cp}_2\text{TiCl(OPh)}$ **28** et $\text{Cp}_2\text{Ti(OPh)}_2$ **27** ont été synthétisés en présence de la diéthylamine (ou la triéthylamine) et de l'hydruire de sodium respectivement avec de bons rendements. Nous disposons des conditions pour générer des complexes mono et diphénoxytitanocène et nous sommes donc potentiellement en mesure de générer des complexes bisphénoxytitanocène symétriques et disymétriques.

IV.2 Synthèse à partir de Cp_2TiMe_2

L'utilisation d'une base forte telle que NaH pourrait ne pas être compatible avec le motif porphyrinique. Nous avons étudié des stratégies alternatives de synthèse de complexe phénoxytitanocène. Dans un premier temps, nous avons tenté d'accéder aux complexes bisphénoxytitanocène **27** par alcoololyse direct du complexe diméthyltitanocène Cp_2TiMe_2 **29** en présence de phénol.⁴⁶

Le complexe diméthyltitanocène a été synthétisé par simple ajout de deux équivalents de MeLi sur le dichlorure de titanocène à - 50 °C.⁴⁷ Une solution jaune, caractéristique des complexes Cp_2TiMe_2 **29**, a été obtenue. La formation du composé Cp_2TiMe_2 **29** a été mise en évidence par spectroscopie RMN ^1H . Le singulet caractéristique des cyclopentadiényles intègre pour dix protons et se situe à $\delta = 6,07$ ppm tandis que le singulet des méthyles intègre pour six protons et se situe à $\delta = -0,16$ ppm.

Pour des raisons d'instabilité, les deux équivalents de phénol ont été ajoutés directement à la solution de titane Cp_2TiMe_2 **29** (Schéma 22). Après agitation sur 18 h à température ambiante, une solution orange a été obtenue.

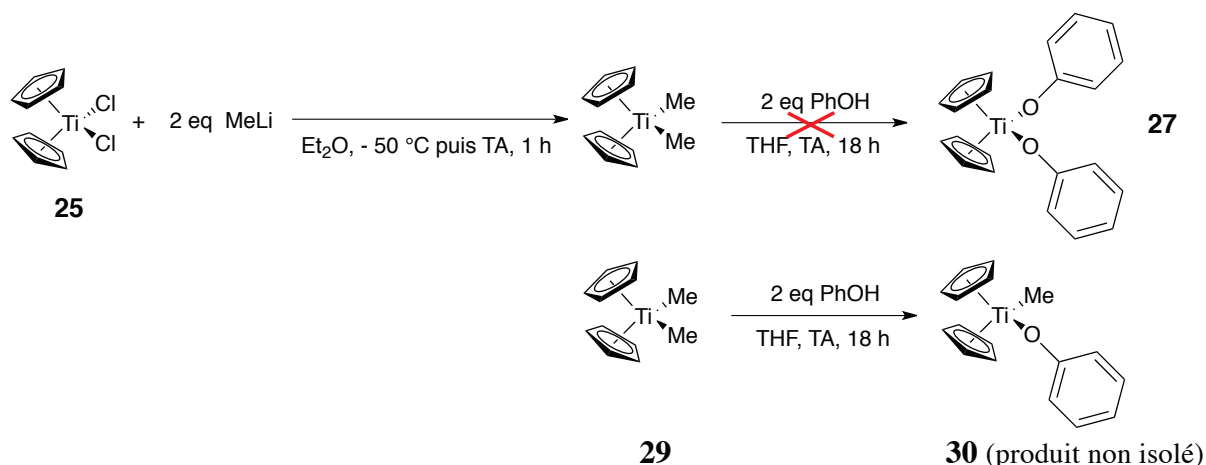


Schéma 22 : Synthèse du complexe 30 en deux étapes à partir de Cp_2TiMe_2 **29**.

Une analyse RMN ^1H a été réalisée afin d'identifier le complexe obtenu (Figure 13). La juxtaposition avec le complexe Cp_2TiMe_2 **29** montre la disparition de ce dernier puisque le pic caractéristique des méthyles à $\delta = -0,16$ ppm a disparu. Un fort blindage des protons correspondant au phénol a été constaté. Un léger déplacement chimique des protons cyclopentadiényles, passant de $\delta = 6,07$ à $6,02$ ppm, a également été observé. Un singulet supplémentaire apparaît à $\delta = 0,85$ ppm. En vue des intégrations et des déplacements chimiques, nous supposons que la structure du composé formé est $\text{Cp}_2\text{TiMe}(\text{OPh})$ **30**.

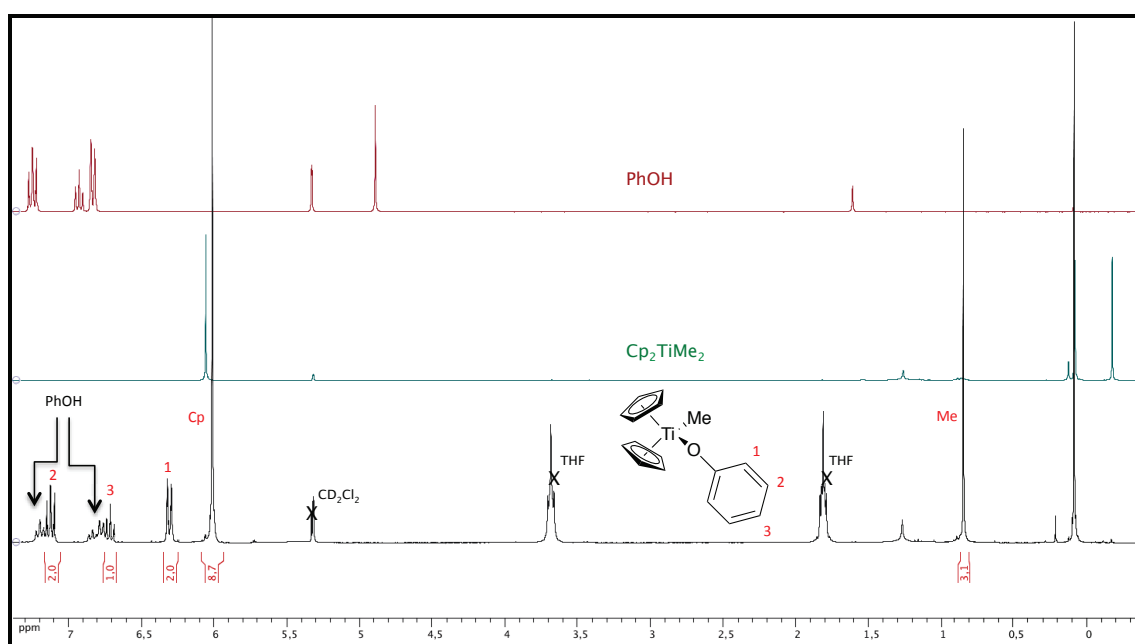


Figure 13 : Spectre RMN ^1H du complexe 30 dans CD_2Cl_2 (300,13 MHz, 300 K).

IV.3 Synthèse à partir de $[\text{Cp}_2\text{Ti}]$

Une troisième voie de synthèse a également été étudiée. Elle consiste en l'addition de deux équivalents de phénol sur un précurseur titanocène généré *in situ*. Ce dernier en présence de phénol devrait s'oxyder facilement pour conduire au complexe cible et départ de dihydrogène.

L'addition de deux équivalents de BuLi sur Cp_2TiCl_2 à -78°C dans l'éther diéthylique puis 1 h à température ambiante conduit au complexe $[\text{Cp}_2\text{Ti}]$ **31**. Une solution noire a été observée au bout de

1 h d'agitation à température ambiante, ce qui est caractéristique de la formation de ce complexe. Le spectre RMN ^1H de ce composé intermédiaire n'a pas pu être effectué en raison de sa grande instabilité. En solution dans le solvant deutéré, il se dégrade dans le tube RMN. Deux équivalents de phénol ont été donc ajoutés à la solution de titane, sans l'avoir isolé auparavant (Schéma 23). Après quelques minutes, une solution orange a été observée.

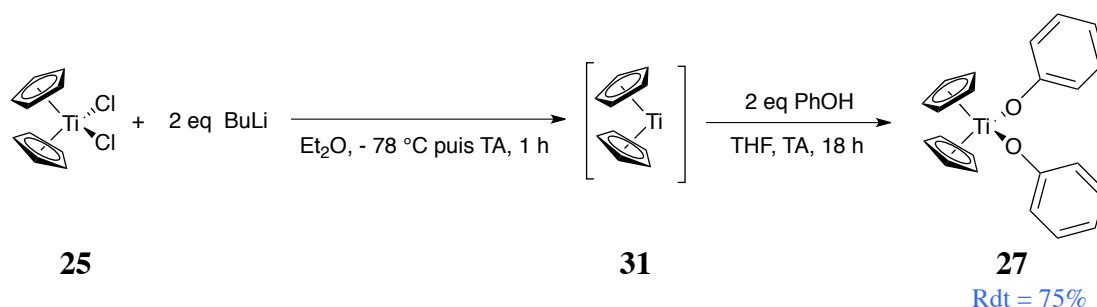


Schéma 23 : Synthèse du complexe **27** en deux étapes à partir de $[\text{Cp}_2\text{Ti}]$ **31**.

La formation du composé **31** a été mise en évidence par spectroscopie RMN ^1H . Effectivement, le déplacement chimique des cyclopentadiényles à $\delta = 6,30$ ppm ainsi que le blindage des protons caractéristiques au phénol confirment les résultats obtenus.

La synthèse du complexe de titane $\text{Cp}_2\text{Ti}(\text{OPh})_2$ **27** a été obtenue avec un rendement de 75%. Elle a été réalisée en deux étapes et ne nécessitent pas l'isolement du complexe intermédiaire formé.

Parmi un nombre important de réactions réalisées, cinq réactions ont montré des résultats intéressants. La synthèse à partir de Cp_2TiCl_2 et en présence de triéthylamine ou de diéthylamine nous a conduit à la formation du complexe monophénoxytitanocène $\text{Cp}_2\text{TiCl}(\text{OPh})$ **28**. La synthèse à partir de Cp_2TiMe_2 **29** a également formé le complexe monosubstitué. L'utilisation de l'hydruide de sodium et de Cp_2TiCl_2 , ainsi que la synthèse à partir de $[\text{Cp}_2\text{Ti}]$ **31** ont permis d'obtenir le dérivé bisphénoxytitanocène $\text{Cp}_2\text{Ti}(\text{OPh})_2$ **27**. La transposition des conditions opérationnelles du phénol au composé porphyrine phénol a été effectuée par la suite.

IV.4 Synthèse de complexes bisalcynyles titanocène

IV.4.1 Synthèse à partir de Cp_2TiCl_2

Les complexes bisalcynyles titanocène sont bien connus dans la bibliographie^{48,49} et ont notamment été utilisés comme ligand « pince » pour construire des systèmes bi- et polymétalliques (liaison π de l'alcyne coordonné sous forme de ligand L au deuxième métal). Ces complexes sont synthétisés par addition de deux équivalents d'alcyne sur le dichlorure de titanocène. Nous avons donc réalisé la synthèse du complexe modèle $\text{Cp}_2\text{Ti}(\text{C}\equiv\text{CPh})_2$ **34** dans ces conditions (Schéma 24).

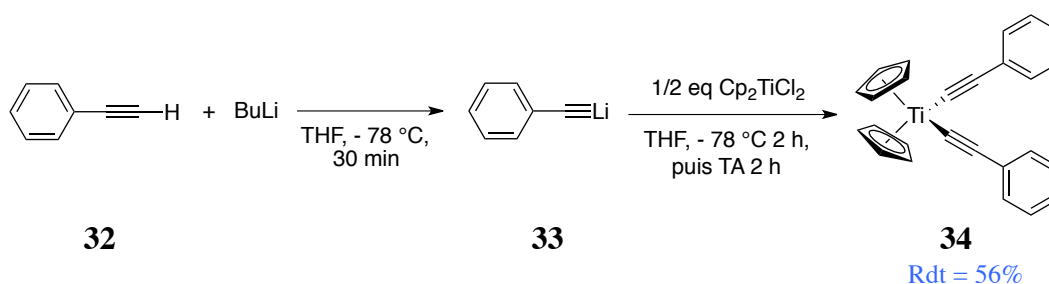


Schéma 24 : Synthèse du complexe **34** à partir de Cp_2TiCl_2 .

Le complexe **34** a été obtenu après recristallisation sous la forme d'une poudre cristalline orange foncée avec un rendement de 56%. L'analyse RMN ^1H montre un éclatement des signaux benzéniques et la disparition du pic du proton de l'alcyne.

IV.4.2 Synthèse à partir de Cp_2TiMe_2

Nous avons voulu étudier des stratégies alternatives de synthèse de complexe bisalcynyle titanocène. Pour cela, la réaction à partir de Cp_2TiMe_2 **29** a été effectuée. Le but de cette synthèse était de se placer dans des conditions opératoires douces et sans utiliser de base. En opposant un alcyne vrai au complexe de titane Cp_2TiMe_2 **29**, le complexe bisalcynyle doit pouvoir être formé par élimination de méthane. Les premiers tests ont été effectués à partir du phénylacétylène et du complexe de titane diméthylé à 45 °C dans le toluène (Schéma 25).

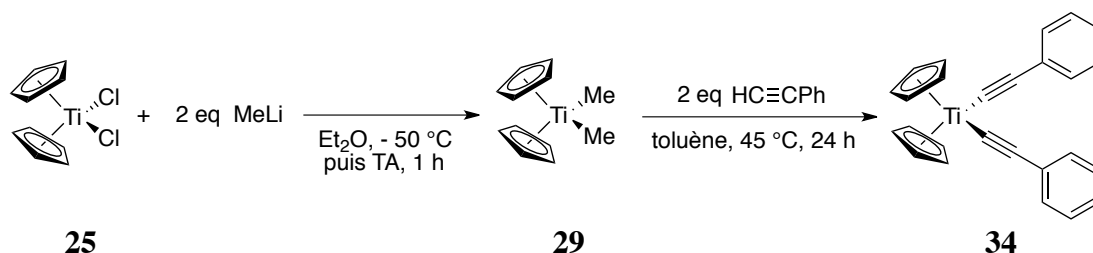


Schéma 25 : Synthèse du complexe **34** à partir de Cp_2TiMe_2 **29**.

Après 24 h de réaction, l'analyse RMN ^1H dans le C_6D_6 montre que le produit souhaité est formé malgré qu'il reste encore du Cp_2TiMe_2 **29**. La réaction a été donc effectuée à plus haute température et sur des temps de réaction plus longs. La formation du complexe $\text{Cp}_2\text{Ti}(\text{C}\equiv\text{CPh})_2$ **34** a été augmentée mais il reste toujours du titanocène diméthylé **29**.

IV.5 Synthèse de complexes bisbenzoates titanocène

Nous avons à notre disposition la porphyrine acide non métallée. Nous devons donc utiliser une base douce telle que la triéthylamine (NEt_3) capable de déprotoner la fonction acide, sans réagir avec les amines pyrroliques de la porphyrine. Dans un premier temps, la synthèse a été réalisée à partir de Cp_2TiCl_2 et l'acide benzoïque en présence de triéthylamine (Schéma 26).^{40,50}

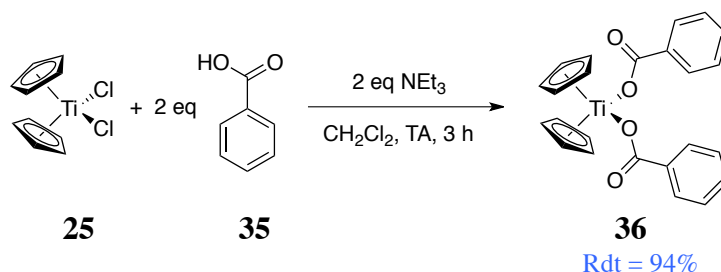


Schéma 26 : Synthèse du complexe **36** à partir de Cp_2TiCl_2 .

Après 3 h de réaction, le bisbenzoate titanocène **36** a été obtenu. L'analyse IR montre pour l'acide benzoïque une bande très large et intense entre 2600 et 3200 cm^{-1} pour la liaison O-H et une très intense vers 1686 cm^{-1} qui correspond au groupement carbonyle. Pour le complexe titane-benzoate, la bande vibrationnelle O-H a disparu et celle du groupement C=O est déplacée à 1630 cm^{-1} .

V. SYNTHÈSE DE COMPLEXES TITANOCÈNE-PORPHYRINE

V.1 Synthèse du complexe $\text{Cp}_2\text{Ti}(\text{O-porph})_2$

V.1.1 Synthèse à partir de Cp_2TiCl_2

Dans un premier temps, nous avons effectué la condensation des dérivés porphyrines phénols selon les conditions opératoires décrites précédemment à partir des dérivés phénols (Schéma 27). L'utilisation de la diéthylamine n'a pas permis d'accéder au complexe cible « monophénoxytitanocène ». L'analyse RMN ^1H du brut réactionnel montre l'apparition de signaux pouvant correspondre au produit attendu mais en très faible proportion.

Des réactions à reflux dans le THF, dans l'éther ou encore en présence de large excès de titane ont également été réalisées mais sans succès. La synthèse de complexe bisphénoxytitanocène en présence de NaH a également été étudiée. Les réactions ont été effectuées à partir de porphyrine base libre, métallée au zinc et au palladium en jouant également sur les conditions réactionnelles (température : TA \rightarrow 90 °C, solvant : THF, toluène, DMF).

Les analyses spectrométriques menées sur les produits formés se sont avérées contradictoires et ne nous ont pas permis de conclure avec certitude sur la formation du produit cible.

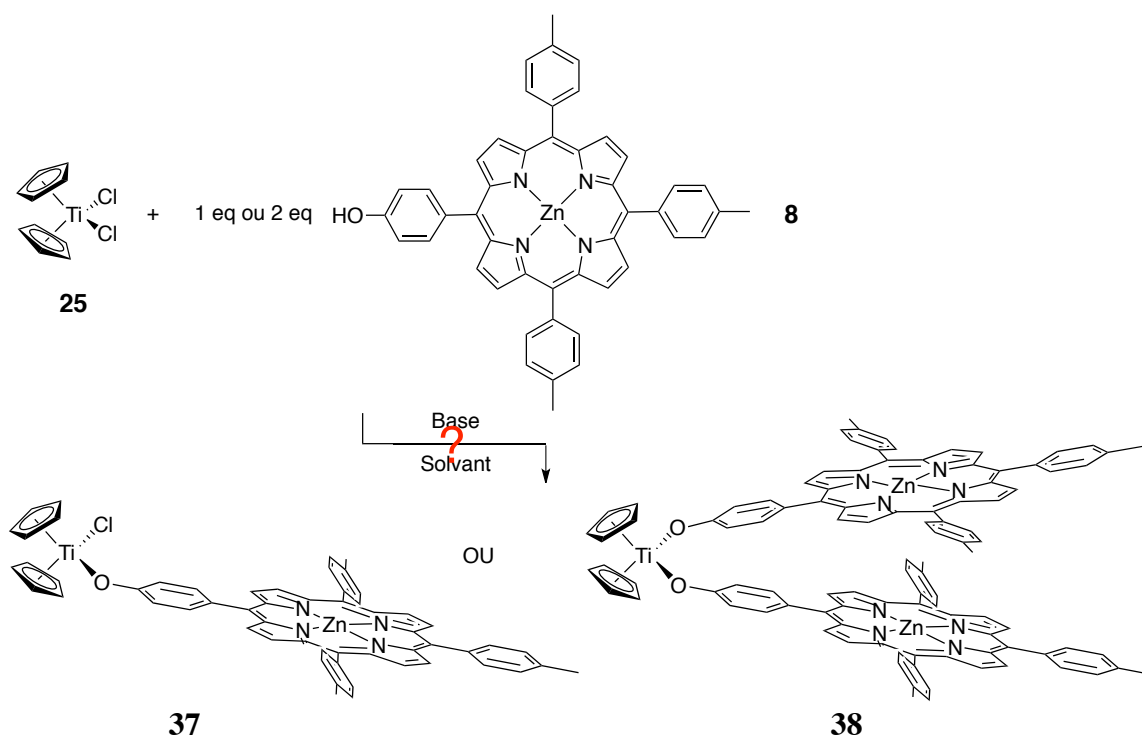


Schéma 27 : Synthèse du complexe mono ou bisphénoxytitanocène à partir de Cp_2TiCl_2 .

Les analyses menées sur le complexe obtenu dans les conditions réactionnelles représentées dans le Schéma 28 sont présentées ci-dessous : spectre RMN ^1H dans CD_2Cl_2 (Figure 14), analyses spectrométriques de masse MALDI-TOF (Figure 15) et de ESI (Figure 16), spectre IR réalisé avec du KBr (Figure 18) et spectre UV-visible réalisé dans le dichlorométhane (Figure 17).

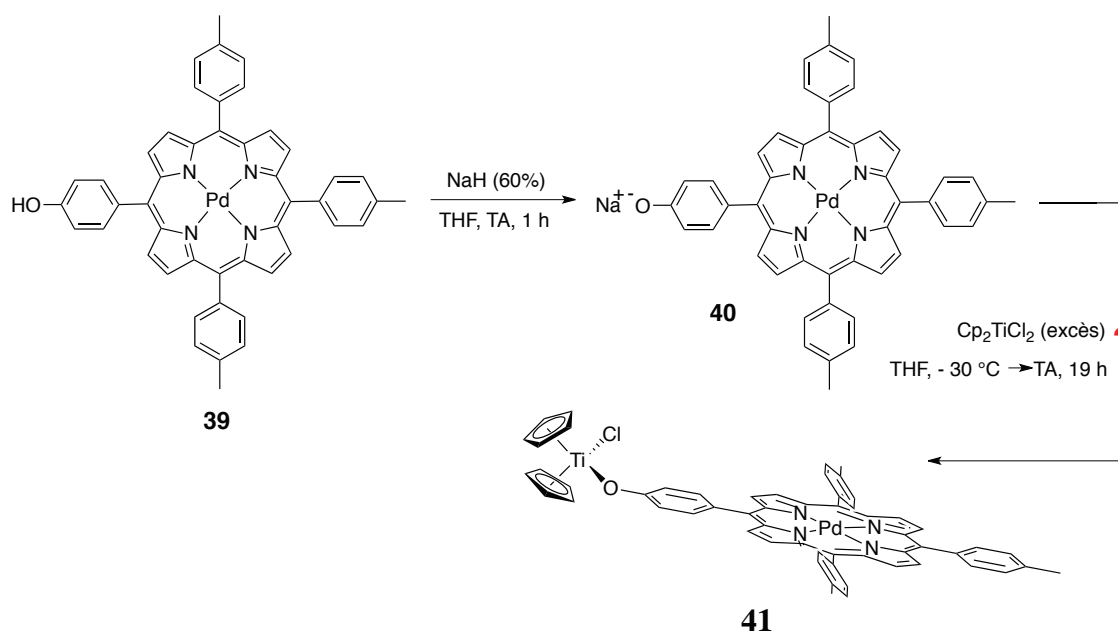


Schéma 28 : Synthèse du dérivé monophénoxytitanocène **41 à partir de NaH.**

Les analyses RMN ^1H du produit brut obtenu après simple évaporation du solvant de la réaction tendent à prouver que le greffage du motif phénol ne se fait pas puisqu'une juxtaposition exacte des spectres des deux substrats a été observée. Cependant, les analyses spectrométriques de masse MALDI-TOF et ESI montrent des amas isotopiques correspondant à nos dérivés titanocène désirés. Les analyses de masse ne permettant pas de définir les quantités des produits, il est donc difficile de déterminer les quantités des produits observés sur nos spectres. Les analyses UV-visible du précurseur porphyrinique et du brut réactionnel ne présentent aucun déplacement de la bande de Soret et des bandes Q. Les analyses IR montrent la disparition (ou une diminution intense) de la bande vibrationnelle $\nu_{\text{O-H}}$ après réaction.

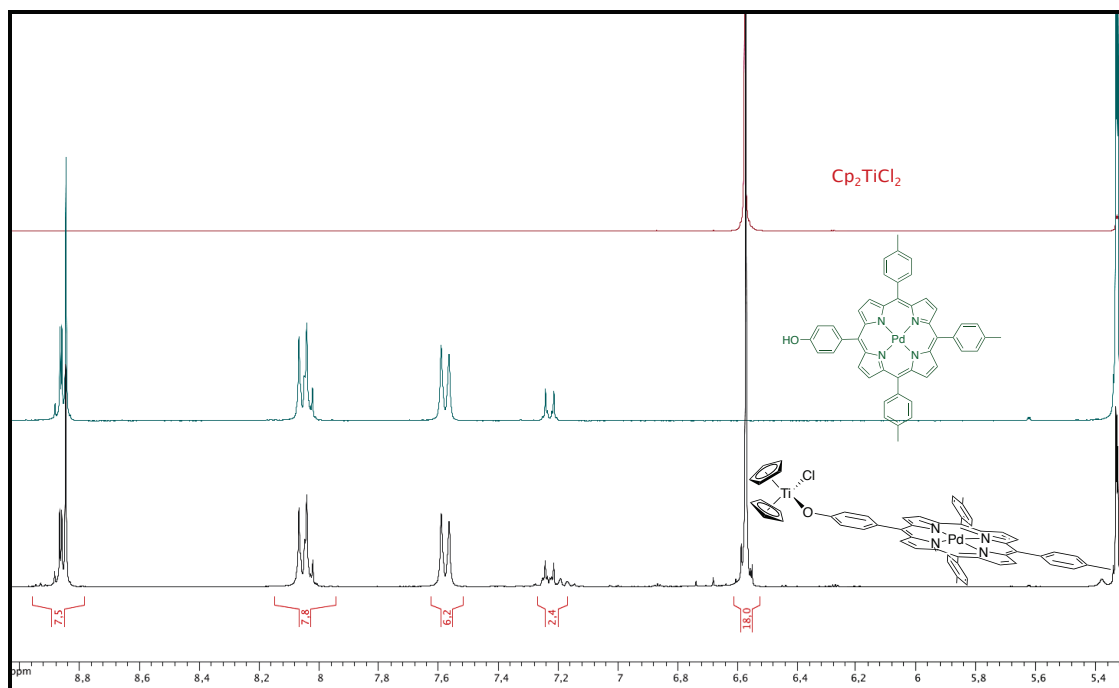


Figure 14 : Superposition des spectres RMN ^1H du complexe Cp_2TiCl_2 , de la porphyrine phénol métallée au palladium et du produit obtenu après réaction (300,13 MHz, CD_2Cl_2 , 300 K).

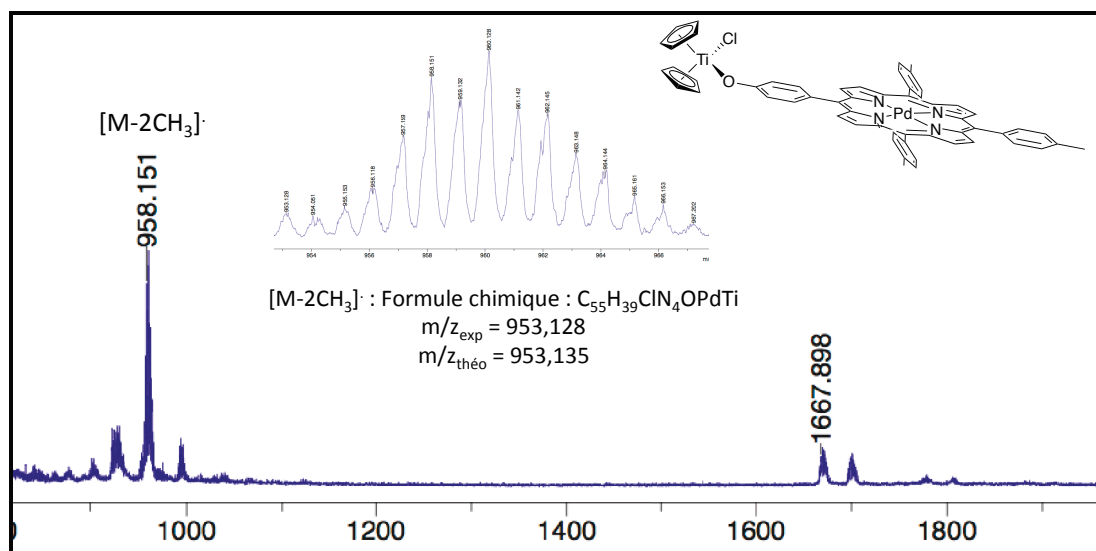


Figure 15 : Analyse de spectrométrie de masse MALDI-TOF de la réaction avec NaH.

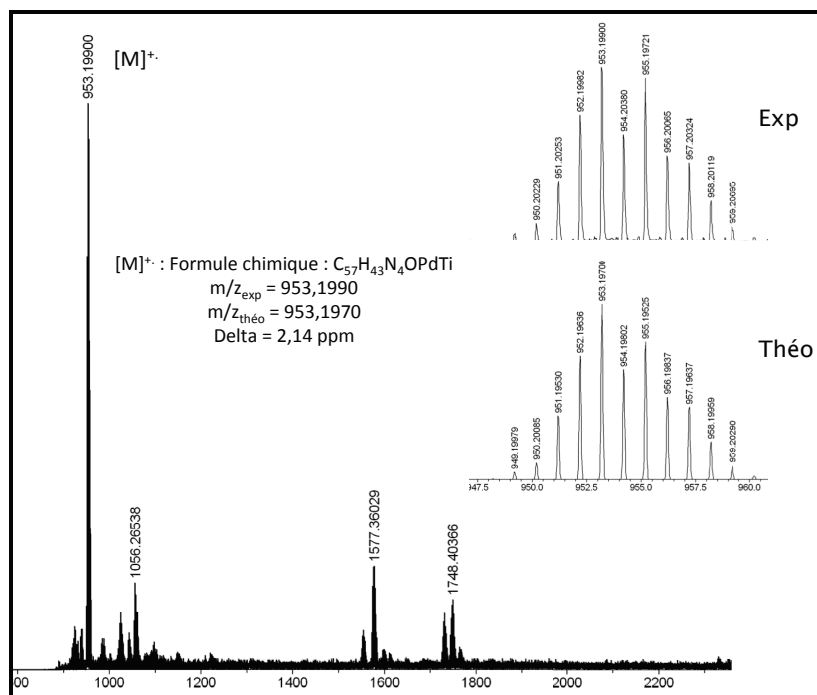


Figure 16 : Analyse de spectrométrie de masse haute résolution ESI de la réaction avec NaH.

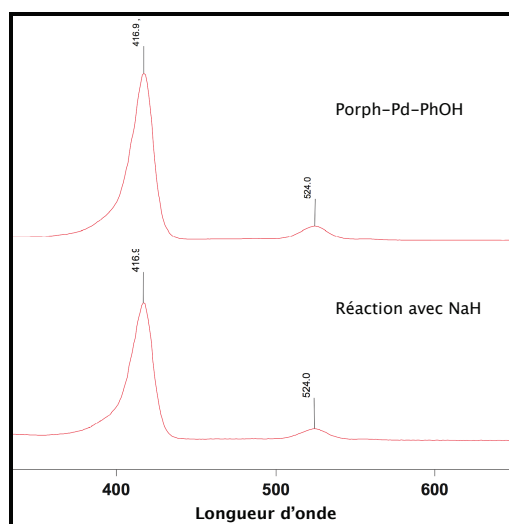


Figure 17 : Superposition des analyses UV-visible de la porphyrine phénol métallée au palladium et de la réaction avec NaH.

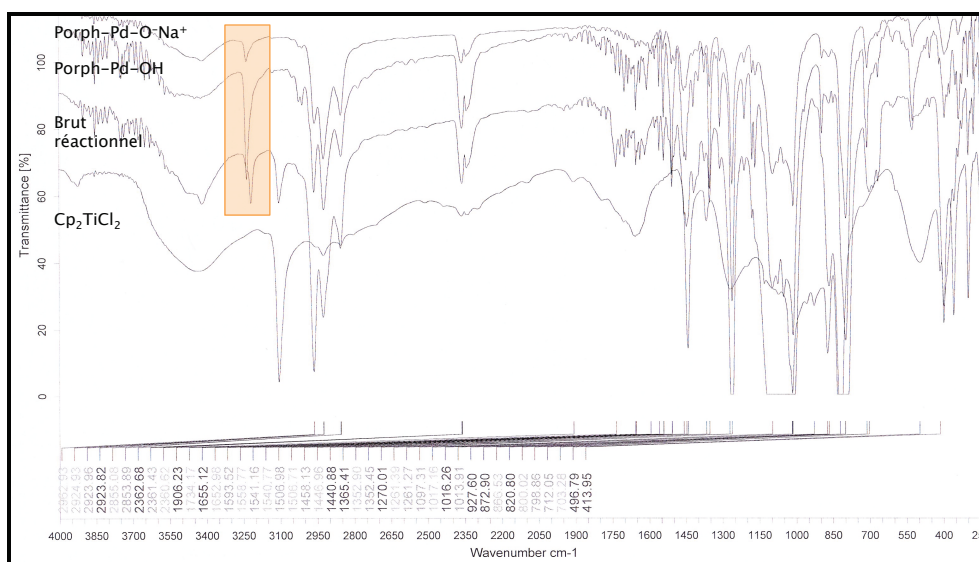


Figure 18 : Superposition des analyses IR des porphyrines phénate et phénol métallée au palladium, de la réaction avec NaH et du dichlorure de titanocène (à 1% dans KBr).

V.1.2 Synthèse à partir de Cp_2TiMe_2 et $[\text{Cp}_2\text{Ti}]$

N'ayant pas obtenu les complexes désirés à partir de Cp_2TiCl_2 , nous avons envisagé de transposer les conditions opératoires mises en place avec le groupement phénol au composé porphyrinique des réactions effectuées à partir des complexes de titane Cp_2TiMe_2 **29** et $[\text{Cp}_2\text{Ti}]$ **31**. Le but de ces synthèses était de se placer dans des conditions opératoires douces et sans utiliser de base.

À partir du complexe Cp_2TiMe_2 **29** et deux équivalents du groupement phénol, nous avons obtenu le dérivé monosubstitué $\text{Cp}_2\text{TiMe}(\text{OPh})$ **30**, tandis qu'avec le dérivé $[\text{Cp}_2\text{Ti}]$ **31**, nous avons le complexe bisphénol titanocène $\text{Cp}_2\text{Ti}(\text{OPh})_2$ **27**. Ainsi, des conditions opératoires identiques ont été utilisées pour la transposition au composé porphyrinique. Pour la synthèse du composé **42**, seulement un équivalent de porphyrine a été ajouté puisque le dérivé monosubstitué **30** a été obtenu malgré l'ajout de deux équivalents de phénol pour le composé modèle. Les synthèses ont été

effectuées *in situ* après formation des précurseurs de titane, sans isolement du produit intermédiaire (Schéma 29).

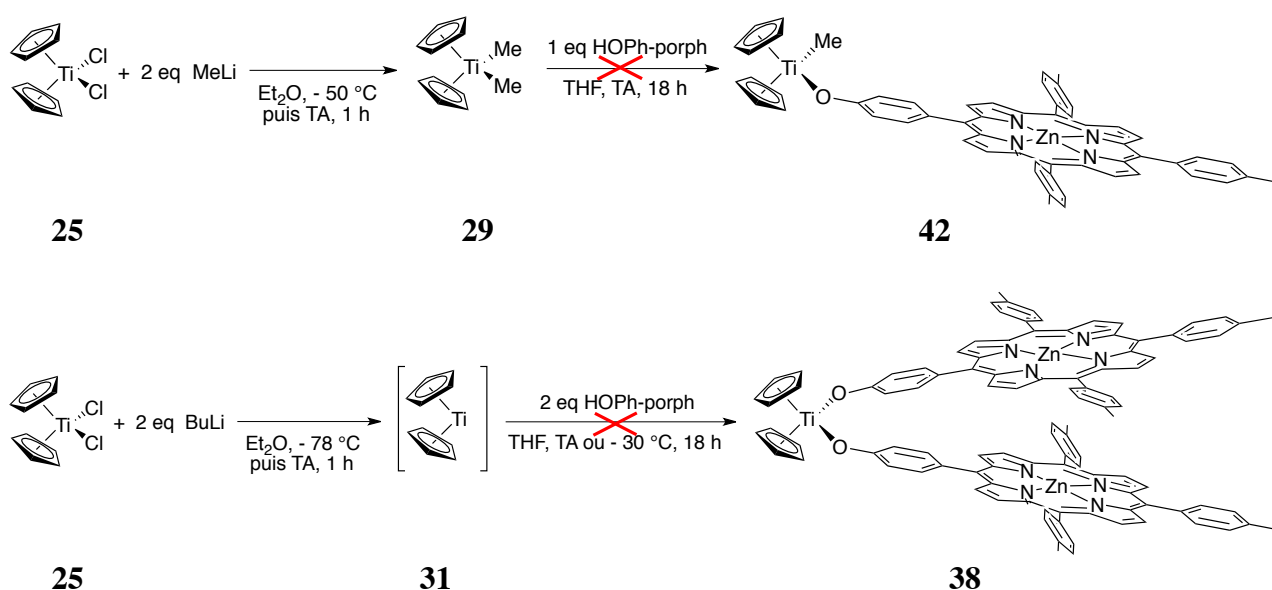


Schéma 29 : Synthèse des complexes monophénoxyporphyrine et bisphénoxyporphyrine titanocène à partir de Cp_2TiMe_2 **29 et $[\text{Cp}_2\text{Ti}]$ **31**.**

Une analyse RMN ^1H a été réalisée afin d'identifier le complexe obtenu avec le complexe Cp_2TiMe_2 **29**. La juxtaposition du brut réactionnel avec la porphyrine correspondante et le complexe Cp_2TiMe_2 **29** montre la disparition du pic caractéristique des méthyles à $\delta = -0,16$ ppm. Le singulet correspondant au méthyle du complexe $\text{Cp}_2\text{TiMe}(\text{OPh})$ **30** à $\delta = 0,85$ ppm n'est pas observé. Un dédoublement du pic caractéristique des cyclopentadiényles à $\delta = 6,07$ ppm a été observé et intègre pour cinq protons. Cependant, nous n'observons aucun changement au niveau des protons relatifs à la porphyrine alors que pour le complexe $\text{Cp}_2\text{TiMe}(\text{OPh})$ **30**, un déplacement significatif a été constaté. Une analyse de spectrométrie de masse haute résolution ESI-MS a été combinée à l'analyse RMN ^1H afin d'identifier le produit formé. Plusieurs amas isotopiques non identifiables ont été observés. Le spectre IR est difficile à interpréter puisqu'une large bande dans la zone des vibrations O-H est affichée.

De même, le brut réactionnel des réactions effectuées à partir de $[\text{Cp}_2\text{Ti}]$ **31** a été analysé par spectroscopie RMN ^1H . Dans chacun des cas (ajout de la porphyrine à la solution du complexe de titane à température ambiante ou à $-30\text{ }^\circ\text{C}$), une disparition des pics caractéristiques aux cyclopentadiényles a été observée. Les déplacements chimiques des protons caractéristiques des protons porphyriniques ne se déplacent pas. L'analyse spectrométrique de masse MALDI-TOF ne nous indique pas la formation du complexe désiré.

Malheureusement, les réactions avec les précurseurs de titane Cp_2TiMe_2 **29** et $[\text{Cp}_2\text{Ti}]$ **31** ne nous conduisent à aucun produit de couplage entre les deux entités.

Étant donné que les recherches sur la synthèse du complexe titane-porphyrine phénol métallée au zinc ou au palladium n'ont pas fonctionné, nous avons voulu tester d'autres groupements « d'accroche » sur la porphyrine. Les porphyrines possédaient cette fois-ci un groupement alcyne et un groupement acide carboxylique en position *meso* (Figure 19).

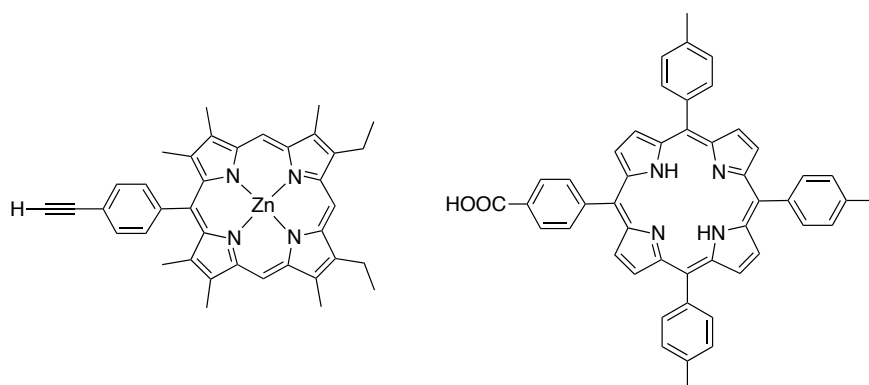


Figure 19 : Structure des porphyrines avec les différents groupements « d'accroche ».

V.2 Synthèse du complexe $\text{Cp}_2\text{Ti}(\text{C}\equiv\text{C-porph})_2$

V.2.1 Synthèse à partir de Cp_2TiCl_2

En utilisant les mêmes conditions que celles décrites précédemment avec le dérivé phénylacétylène, la réaction a été transposée au complexe de porphyrine alcyne (Schéma 30).

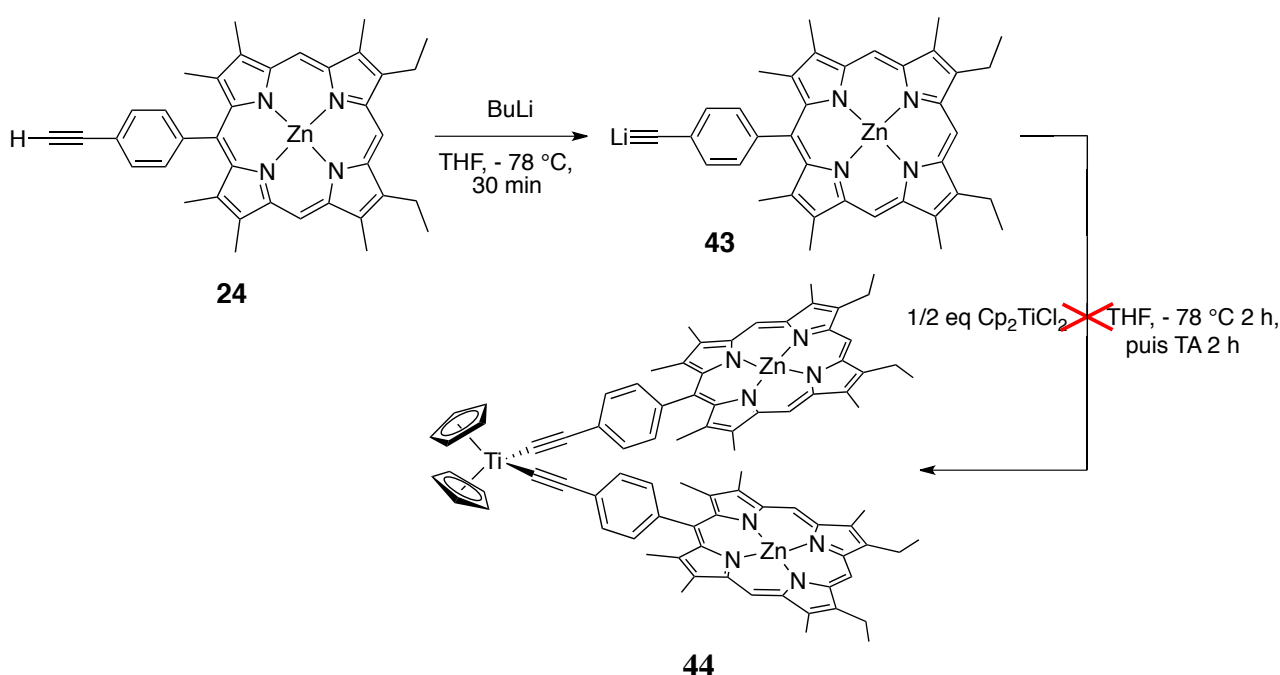


Schéma 30 : Synthèse du complexe 44 à partir de Cp_2TiCl_2 .

Bien qu'un nombre important de réactions ait été réalisées, il ne nous a pas été possible d'obtenir le complexe bisalcyneporphyrine titanocène cible. L'analyse RMN ^1H du produit obtenu après simple évaporation du solvant de la réaction tend à prouver que le greffage du motif alcyne ne se fait pas. Le spectre RMN ^1H se résume, en effet, à une juxtaposition des spectres des deux substrats.

Compte tenu des observations expérimentales, nous supposons que la porphyrine ne soit pas stable en milieu fortement basique. En effet, l'addition de butyllithium sur la porphyrine, initialement de couleur rose, est accompagnée d'un changement de couleur du milieu réactionnel (du rose au vert). Ceci peut s'expliquer par une perte de l'aromaticité de la porphyrine due à une déprotonation de

l'hydrogène en position méso et non du proton de l'alcyne. Un suivi UV-visible de cette réaction a également été mené et tend à prouver que ce processus s'accompagne d'une démetalation partielle de la porphyrine.

L'ajout de deux équivalents de butyllithium a aussi été tenté. Malheureusement, on obtient de nouveau les réactifs de départ avec les mêmes observations expérimentales.

Suite à ces résultats, nous avons utilisés une autre base (l'isopropylmagnésium) pour arracher sélectivement le proton acétylénique. Un équivalent d'isopropylmagnésium a été donc ajouté à la solution de porphyrine alcyne à -78 °C et cette fois-ci, aucun changement de couleur n'est observé. L'analyse RMN ^1H dans le C_6D_6 montre un dédoublement de chacun des pics de la porphyrine alcyne ainsi qu'un nombre relativement important de signaux au niveau des protons cyclopentadiéniques. L'analyse minutieuse du spectre montre que seule une partie de la porphyrine a réagi (50%). Cependant, aucun signal au niveau des protons cyclopentadiéniques n'a une intensité suffisante pour correspondre au produit de couplage.

Pour mieux comprendre ces résultats, nous avons fait réagir la porphyrine alcyne avec de l'isopropylmagnésium seul. L'analyse RMN ^1H du produit résultant montre également le dédoublement de chacun des signaux de la porphyrine ce qui tend à prouver que ce dédoublement des pics n'est pas dû à la formation du complexe titane-porphyrine attendu.

V.2.2 Synthèse à partir de Cp_2TiMe_2

L'addition de base sur la porphyrine alcyne étant exclue, il nous est paru opportun d'étudier d'autres voies de synthèse qui ne nécessitent pas l'utilisation de base.

Malgré les résultats obtenus avec le composé modèle, ce type de synthèse a tout de même été testé avec la porphyrine alcyne vraie dans des conditions identiques. Malheureusement, même à chaud, la porphyrine n'est pas assez soluble dans le toluène et la réaction ne conduit à aucun produit de couplage entre les deux entités. Nous avons donc tenté la réaction dans le THF et là encore, aucune réaction n'est observée.

Étant donné que les recherches sur la synthèse du complexe titane-porphyrine alcyne métallée au zinc n'ont pas fonctionné, un autre type de porphyrine a été testé avec un autre groupement « d'accroche ». Cette porphyrine possède cette fois-ci un groupement acide carboxylique en position *meso*.

V.3 Synthèse du complexe $\text{Cp}_2\text{Ti}(\text{OOC-porph})_2$

Les tests avec l'acide benzoïque ayant conduit à des résultats satisfaisants, cette réaction a été effectuée avec la porphyrine acide non métallée dans les mêmes conditions que l'acide benzoïque (Schéma 31).

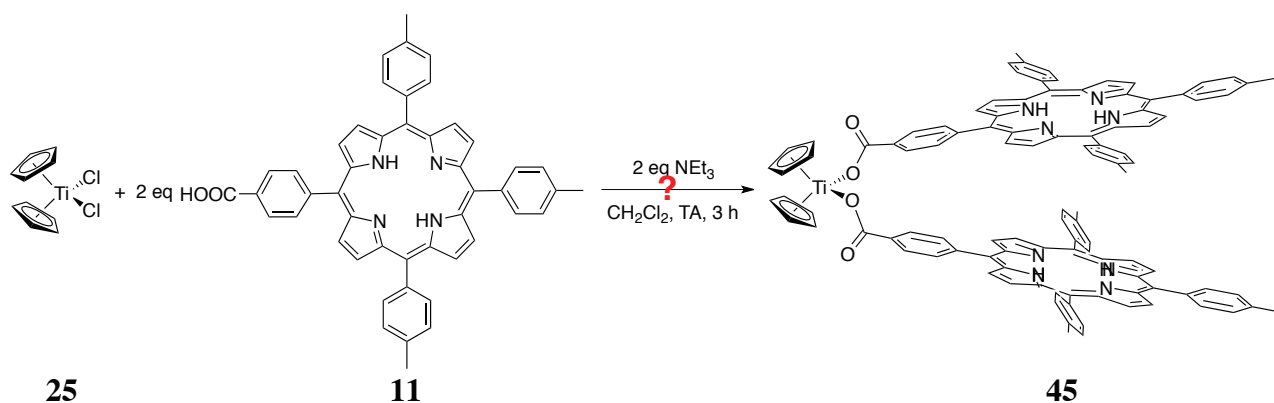


Schéma 31 : Synthèse du complexe 45 à partir de Cp_2TiCl_2 .

L'analyse RMN ^1H a été réalisée dans le DMSO-d_6 car le produit n'est pas assez soluble dans les solvants comme le benzène. Les protons cyclopentadiéniques sont blindés et apparaissent sous la forme de deux multiplets. Compte-tenu de la structure du composé 45, cette anisochronie des protons cyclopentadiéniques est surprenante (Figure 20). Une analyse RMN ^1H du composé 36 dans le DMSO-d_6 a été alors effectuée et le même phénomène est observé. Nous pensons que cette anisochronie provient d'une rotation bloquée des noyaux cyclopentadiéniques induite par un encombrement trop important du centre métallique (deux benzoates + coordination du DMSO-d_6). Cependant, aucun changement n'est observé pour les protons porphyriniques. L'analyse IR montre de nouveau un déplacement de la bande vibrationnelle du groupement C=O vers 1624 cm^{-1} (1691 cm^{-1} pour le précurseur porphyrinique) et ceci semble confirmer la structure du composé 45. Les analyses UV-visible montrent une juxtaposition exacte du précurseur porphyrinique et du composé 45. Des analyses spectrométriques de masse MALDI-TOF et ESI ont également été effectuées. Aucun amas isotopique correspondant au complexe désiré 45 n'a été visualisé.

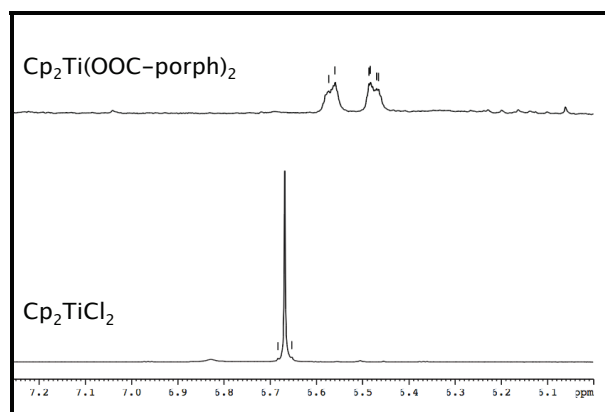


Figure 20 : Superposition des spectres RMN ^1H du complexe Cp_2TiCl_2 et du composé 45 (300,13 MHz, DMSO-d_6 , 300 K).

Par comparaison avec les différentes analyses effectuées, il ne nous a pas été possible de déterminer, à ce jour, si les complexes bisbenzoateporphyrines titanocène se sont formés.

VI. CONCLUSION

Le but de ce projet était la conception de composés organométalliques à base de métallocènes et de métalloporphyrines en vue d'études électrochimiques et photophysiques.

Nous avons synthétisé plusieurs composés modèles monosubstitués ou disubstitués à partir du ligand phénol. La condensation de ce ligand a été testée avec divers types de précurseurs de titane : Cp_2TiCl_2 **25**, Cp_2TiMe_2 **29**, $[\text{Cp}_2\text{Ti}]$ **31**.

Nous avons, dans un premier temps, essayé de condenser une porphyrine phénol sur le complexe de titane en s'inspirant de modes opératoires mis au point pour le composé modèle $\text{Cp}_2\text{Ti}(\text{OPh})_2$ **27**. Bien qu'un nombre important de conditions ait été testé, le complexe bisphénoxyporphyrine (ou monophénoxyporphyrine) titanocène n'a pas été obtenu. De nombreuses techniques d'analyses ont été utilisées pour déterminer la structure du complexe : RMN ^1H , MALDI-TOF (avec ou sans matrice), ESI, IR et UV-visible. Seules les analyses de spectrométrie de masse ont pu démontrer la formation du produit cible. Mais ces résultats ne sont pas corrélés avec les analyses spectrales RMN. Nous ne pouvons donc pas savoir si le complexe est réellement formé ou si il est présent seulement sous la forme de traces (détectées par spectrométrie de masse). Cependant, ces analyses montrent, tout de même, qu'une infime quantité de ce complexe a été synthétisée.

Une autre approche a été envisagée en changeant le groupe « d'accroche » : un groupement alcynure ou un groupement carboxylate. Les composés modèles de type $\text{Cp}_2\text{Ti}(\text{C}\equiv\text{CPh})_2$ **34** et $\text{Cp}_2\text{Ti}(\text{OOBz})_2$ **36** ont également été obtenus. Lors de la transposition aux dérivés porphyriniques, les réactions ne nous ont pas conduit aux produits de couplage attendus.

La transposition des conditions opérationnelles des composés modèles à l'entité porphyrinique n'a pu être réalisée. Cela peut s'expliquer par la différence de quantité de réactifs utilisés dans ces deux réactions. En effet, nous disposons d'une quantité limitée de porphyrine dont la masse molaire est très élevée. Les tests avec la porphyrine ont donc été réalisés sur des quantités de l'ordre de la millimole, ce qui implique notamment des quantités très faibles de complexes de titane et des bases (quelques milligrammes ou microlitres). D'autre part, nous avons montré que l'entité porphyrinique métallée ou base libre n'est pas systématiquement compatible avec l'utilisation de base tel que NaH , BuLi ... L'utilisation de voies alternatives à partir de complexes de titane très réactifs (Cp_2TiMe_2 **29**, $[\text{Cp}_2\text{Ti}]$ **31**) n'a pas permis d'accéder aux complexes cibles. Dans ce cas, la présence d'impuretés (H_2O , solvant résiduel,...) pourrait conduire à une dégradation partielle du complexe de titane. Enfin, la porphyrine n'est peut être pas assez nucléophile pour se condenser au complexe de titane dû à l'effet électroattracteur du centre porphyrinique.

PARTIE II

INTRODUCTION GÉNÉRALE

I. QU'EST-CE QUE LE CANCER ?

Généralement, le cancer se présente sous la forme d'une tumeur, d'une masse qui se développe dans un organe. Les tumeurs solides, qui représentent 90% de tous les cancers, se distinguent des leucémies qui atteignent les cellules de la moelle osseuse, et qui diffusent dans l'organisme *via* le sang.

La gravité du cancer est due à sa capacité à détruire l'organe d'origine ou un autre organe. S'il s'agit d'un organe dont le fonctionnement est important pour la vie (cerveau, foie, poumons...), le malade peut mourir à cause de sa destruction par le cancer.

I.1 Situation actuelle

Le cancer est un problème de santé publique majeur dans le monde. Il est l'une des principales causes de mortalité. En 2008, 7,6 millions de personnes sont morts du cancer dans le monde, soit environ 13% de la mortalité mondiale. D'après les projections, la mortalité due au cancer va continuer à augmenter pour dépasser, selon les estimations, 13,1 millions de décès en 2030.⁵¹ En France, la mortalité par cancer a diminué au cours des vingt dernières années. Le cancer représente néanmoins la première cause de mortalité en France. En 2010, 146 500 décès par cancer ont été estimés.⁵²

La lutte contre le cancer est une priorité du secteur de la santé et fait l'objet de nombreuses mobilisations financières et humaines soutenues par plusieurs associations ou organisations dont l'Organisation Mondiale pour la Santé (OMS) et le Plan Cancer 2009-2013 en France (2^{ème} Plan Cancer).

I.2 Différence entre une cellule saine et une cellule cancéreuse

Le corps contient des centaines de milliards de cellules formant les tissus et les organes. La plupart ont une durée de vie limitée : quelques jours pour les cellules de la paroi des intestins, quelques mois pour les globules rouges du sang. Tous les jours, les cellules se divisent pour remplacer les cellules mortes, mais aussi pour cicatriser les blessures.

Les cellules saines de l'organisme se multiplient de manière contrôlée : elles se divisent lorsque cela est nécessaire et sont programmées pour ne se multiplier qu'un nombre de fois fini. Lorsqu'elles se sont divisées un trop grand nombre de fois ou lorsqu'elles présentent des altérations qui ne sont pas réparables, elles meurent (Figure 21).

À l'inverse, la multiplication des cellules cancéreuses échappe à tout contrôle. Ces cellules peuvent se diviser à l'infini. Elles ont, en outre, la capacité d'induire la formation de vaisseaux sanguins (angiogenèse). Ces vaisseaux vont fournir l'oxygène et les nutriments nécessaires à leur multiplication. Le cancer se caractérise donc par une anomalie du plan de fabrication des cellules qui sont modifiées et ne jouent plus correctement leur rôle. Ces cellules sont capables de se multiplier rapidement et/ou ne meurent plus, alors que les cellules normales sont programmées pour mourir (apoptose). Les cellules cancéreuses s'accumulent et forment une masse, une tumeur. Elles

prennent la place des cellules normales. Le passage d'une cellule cancéreuse à une tumeur prend plusieurs années.

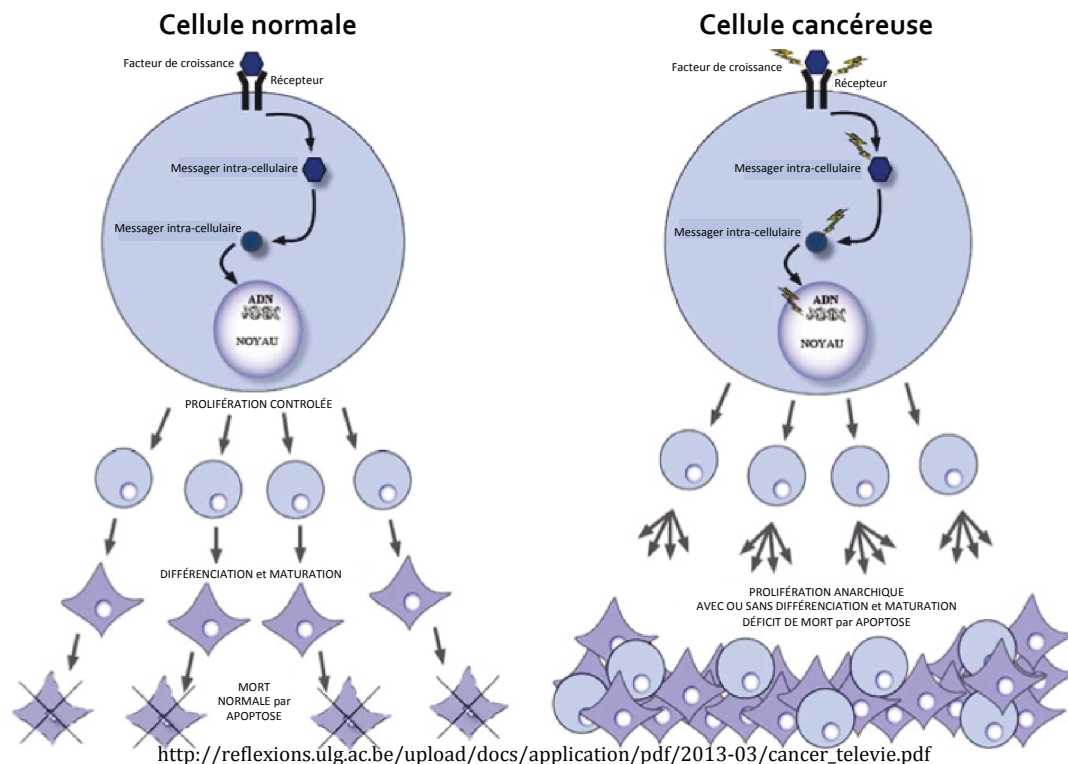


Figure 21 : Différence entre une cellule normale et une cellule cancéreuse.

Toutes les tumeurs ne sont pas des cancers. Beaucoup de tumeurs sont dites « bénignes » : elles déforment l'organe et y produisent parfois quelques troubles mais ne le détruisent pas complètement et donnent jamais de métastases, au contraire des cancers que l'on appelle aussi tumeurs « malignes ». Il arrive que des cellules cancéreuses s'échappent de l'organe atteint par le cancer. Elles passent alors dans la circulation sanguine et s'installent dans d'autres organes pour y donner d'autres tumeurs dites « secondaires », appelées métastases.

I.3 Traitements du cancer

Une fois le cancer diagnostiqué, différentes méthodes sont à la disposition des praticiens pour traiter la maladie. Le traitement du cancer repose principalement sur la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie. Tous les malades ne vont pas être soignés de la même manière. Ces différentes techniques peuvent être combinées et le choix du traitement dépend du type de cancer et du stade auquel il a été découvert.

La chirurgie est classiquement utilisée pour enlever la tumeur primaire et permet la guérison d'un grand nombre de cancers précoces. Elle est aujourd'hui la méthode la plus efficace pour les petits foyers tumoraux sans métastase. Cependant, l'élimination de l'intégralité des cellules cancéreuses et la prévention de leur dissémination lors de l'opération chirurgicale peuvent être difficiles. Toujours pour les traitements locaux, la radiothérapie, basée sur l'action de rayonnements ionisants (X , α , β ou γ), est utilisée pour traiter les tumeurs mais pose le problème de la toxicité des rayonnements ionisants sur les tissus sains environnants. Enfin, la chimiothérapie consiste à traiter le cancer au moyen de médicaments qui détruisent les cellules cancéreuses et les empêchent de se multiplier. Il existe de nombreux médicaments différents, le choix du traitement dépendant du type de cancer.

Cependant, ils ne sont pas encore assez spécifiques puisqu'ils ne font pas encore la différence entre les cellules saines et les cellules cancéreuses, entraînant ainsi de nombreux effets secondaires.

Afin d'étudier le mécanisme d'action de ces médicaments et de juger de leur efficacité thérapeutique, nos travaux se sont consacrés à la combinaison d'un imageur et de l'agent thérapeutique. De plus, cette étude a aussi pour objectif de synthétiser de nouveaux composés s'attaquant de manière plus spécifique aux cellules cancéreuses et de limiter ainsi les effets secondaires importants.

II. LES THÉRANOSTIQUES

Un des points clé de la lutte contre le cancer est la capacité à diagnostiquer la maladie. En effet, il est clairement établi que plus un cancer est pris en charge tôt, plus les chances de soigner le patient sont grandes. C'est pour cela que nombre de chercheurs s'investissent dans la recherche de nouveaux moyens de diagnostic pour le dépistage précoce des tumeurs. De fait, l'imagerie médicale fait des progrès très conséquent ces dernières années tant sur l'appareillage et l'informatique que sur les agents de contraste.^{53,54} Sur le plan thérapeutique, les traitements conventionnels ont une sélectivité imparfaite vis-à-vis des cellules tumorales. Une des raisons est que pendant longtemps les scientifiques ont privilégié la course à l'IC₅₀ (concentration de produit nécessaire pour tuer 50% d'une population de cellules) plutôt que la recherche de spécificité. Ils entraînent des effets secondaires, parfois sévères, qui limitent les doses auxquelles ils peuvent être administrés. La cancérologie clinique réclame donc le développement conjoint de nouvelles méthodes diagnostiques plus sensibles et plus performantes, ainsi que de nouvelles thérapeutiques plus efficaces, mieux tolérées mais aussi mieux comprises. Pour répondre à ces besoins, une nouvelle thématique a émergé cette dernière décennie : la théranostique.

Le terme *théranostique* a été employé la première fois en 2002 par Funkhouser et est défini comme un composé combinant les modalités de la thérapie et du diagnostic (Figure 22).⁵⁵ Ainsi, le théranostique délivre à la fois le médicament et l'agent d'imagerie au sein de la même dose. Son but est, dans un premier temps, de s'informer sur l'absorption du médicament, de réaliser leur suivi, de déterminer leur(s) cible(s) biologique(s), leur biodistribution et éventuellement leur devenir dans le corps du patient. Le ciblage spécifique des tissus ou des organes malades réduira ainsi les doses injectées tout en améliorant l'efficacité globale des traitements en les adaptant de manière plus personnalisée, ce qui permettra donc de déterminer une posologie individualisée. La dose maximale tolérée est la dose la plus élevée possible d'un médicament ou d'un traitement qui ne provoque pas d'effets secondaires inacceptables. Durant un acte chirurgical, ce ciblage peut permettre également d'éliminer avec précision la quasi totalité de la tumeur. Le théranostique a donc la capacité à localiser d'une manière spécifique le site de la maladie et d'apporter les informations nécessaires pour réduire ou éliminer les effets secondaires indésirables. Le théranostique idéal devrait très peu changer l'efficacité du médicament ou dans le meilleur des cas, avoir une réponse thérapeutique améliorée. De même, les récents scandales dans le domaine du médicament ont encore renforcé les exigences requises pour les autorisations de mise sur le marché. Les études pharmacocinétiques doivent donc être améliorées et surtout, il est nécessaire de mieux comprendre le mécanisme d'action et les cibles d'un composé avant qu'il soit validé.

PHARMACOCINÉTIQUE

La pharmacocinétique a pour but d'étudier le devenir d'un médicament dans l'organisme.

La détermination des paramètres pharmacocinétiques d'un médicament apporte les informations qui permettent de choisir les voies d'administration et d'adapter les posologies pour son utilisation future.

On peut distinguer schématiquement quatre étapes dans la pharmacocinétique d'un médicament :

- 1) son absorption
- 2) sa diffusion dans l'organisme
- 3) son métabolisme
- 4) son élimination de l'organisme

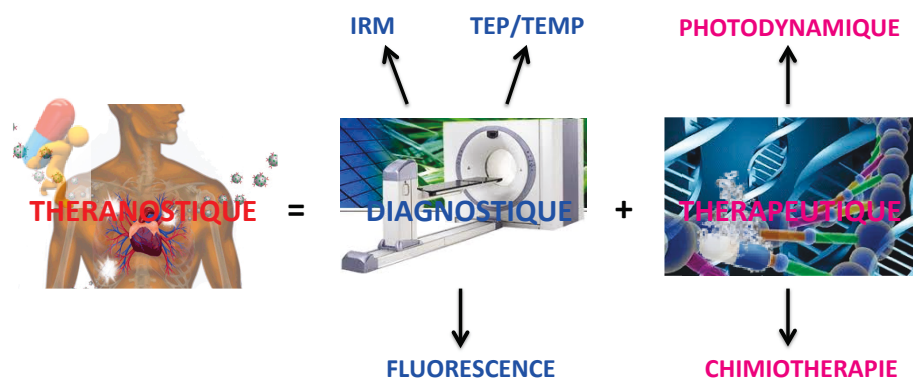


Figure 22 : Définition du théranostique.

Pour résumer, le théranostique a pour but d'améliorer l'efficacité des traitements actuels et à ce jour, les formulations exploitant cette technologie sont peu nombreuses sur le marché, mais il est certain que l'important effort de recherche académique et industriel porté dans ce domaine devrait offrir dans les années qui viennent une palette de nouvelles solutions médicales et générer également une importante activité économique.

Le projet de thèse s'inscrit dans cette thématique de recherche et a pour objectif de concevoir un système offrant cette double possibilité de diagnostic et de thérapie pour mieux cibler la zone tumorale afin d'apporter une solution thérapeutique. Depuis des décennies, les complexes métalliques ont été au cœur de la thérapie du cancer. En effet, parmi les médicaments anticancéreux les plus utilisés actuellement dans le monde et en particulier contre les cancers des testicules et des ovaires, ce sont les dérivés du platine et plus particulièrement le cisplatine qui sont employés.⁵⁶ Ce succès a donné naissance au domaine de la chimie bioinorganique qui a vu le développement d'une multitude de complexes métalliques destinés à la thérapie ces dernières années.^{57,58} Un assortiment de complexes avec différents métaux s'est révélé actif dans une variété d'essais biologiquement pertinente. Cependant, nous nous sommes ciblés sur les complexes de ruthénium(II), d'osmium(II) et d'or(I). Leurs mécanismes d'action sont différents et ne sont pas encore connus. Au cours des ces cinq dernières années, un changement a eu lieu dans le domaine de la biométallique en mettant d'avantage l'accent sur la compréhension de la façon dont ces thérapeutiques réagissent. Ainsi, il nous a paru judicieux de travailler sur ces molécules organométalliques couplées à un groupement imageable afin de pouvoir les localiser *in vitro* et *in vivo*. Les théranostiques ainsi obtenus posséderont, de fait, les aptitudes requises pour la thérapie et pour leur localisation.

III. LES DIFFÉRENTES TECHNIQUES D'IMAGERIE MÉDICALE

L'imagerie médicale permet d'apporter des informations précises sur les organismes vivants de manière non traumatique, et sans en perturber les grands équilibres.

Devenue indispensable au diagnostic d'un grand nombre de pathologies (y compris de nombreuses maladies du système nerveux comme la sclérose en plaques ou la maladie d'Alzheimer), l'imagerie médicale est utilisée dans un but préventif. Elle permet aussi un suivi très précis de l'évolution d'une maladie. Elle est aussi utilisée pour aider ou assister une intervention éventuelle (imagerie interventionnelle), qu'il soit s'agisse d'un examen complémentaire requis pour le diagnostic, tel une biopsie (ponction), ou d'une intervention nécessaire au traitement, telle que des infiltrations ou un drainage. L'imagerie médicale a par ailleurs une utilité particulière en pharmacologie où elle permet de tester *in vivo* l'efficacité d'un traitement pharmaceutique, et donc de limiter notablement le nombre d'animaux utilisé dans le cadre d'expérimentations. Enfin, l'imagerie a également contribué à faire exploser la connaissance des différentes fonctions sensori-motrices et cognitives chez l'homme (langage, raisonnement, mémoire, apprentissage, motivation, émotion).

Ces techniques connaissent aujourd'hui un essor important et se révèlent de plus en plus indispensables aux neurosciences mais aussi à l'innovation thérapeutique ou encore à la cancérologie. Elles sont toutes basées sur l'utilisation d'un rayonnement électromagnétique permettant par interaction avec la matière d'apporter les informations désirées. Seule exception, l'échographie (ultrasonographie) exploite la propagation d'une onde mécanique (acoustique) : les ultrasons. La radiographie et le scanner reposent sur l'utilisation des rayons X. L'IRM emploie un signal dans la zone des radiofréquences. L'imagerie radioisotopique est basée sur la détection des rayons gamma (scintigraphie). L'imagerie optique emploie un signal dans le domaine du visible et du proche infrarouge.

III.1 La radiographie

La radiographie par rayons X est la plus ancienne des techniques d'imagerie médicale, découverte en 1895 par W. C. Röntgen. Les rayons X sont des ondes électromagnétiques qui se situent entre l'ultra-violet et les rayons gamma (Figure 23).

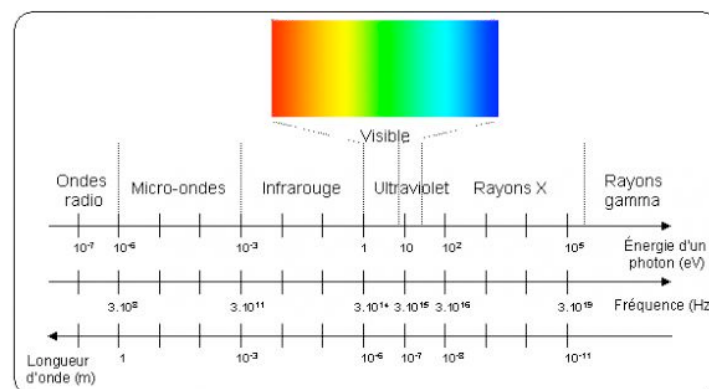


Figure 23 : Spectre électromagnétique.⁵⁹

Le faisceau de rayons X, produit par un tube à rayons X, est émis en direction de la zone du corps humain à examiner, son intensité est modulée par l'absorption différentielle des organes traversés. L'image est recueillie en sortie sur un détecteur. Les rayons X sont atténués en fonction de la composition chimique des tissus traversés. Cette atténuation est élevée pour l'os, moyenne pour les tissus mous et est faible pour la graisse. Les os contiennent en effet des sels minéraux (phosphore, calcium, magnésium) qui sont des éléments de numéro atomique plus élevés que les constituants principaux des tissus mous (oxygène, carbone, hydrogène, azote...). Ils absorbent donc plus les rayons X. Lorsque le contraste est insuffisant, des agents de contraste sont utilisés, par exemple de l'iode pour l'angioplastie (intervention chirurgicale visant à réparer ou à désobstruer un vaisseau) et du sulfate de baryum BaSO_4 pour un examen du tube digestif.

La radiographie est une technique employée aussi bien préventivement (exemple : mammographie de contrôle) que pour réaliser un diagnostic (exemple : radiographie dentaire) mais aussi pour l'accomplissement d'un acte thérapeutique (exemple : kystographie gazeuse, examen qui consiste à vider un kyste de son contenu liquide et à le remplacer par la même quantité d'air stérile).

Le scanner utilise le même principe que la radiographie avec l'irradiation aux rayons X. La radiographie utilise un système fixe tandis que le scanner utilise un système en rotation. Des images en coupe fine du corps sont alors obtenues. Couplée à un traitement numérique des données, la mesure du coefficient d'atténuation des rayons X permet alors de restituer une image précise de la zone étudiée.

Le scanner est une technique employée pour mettre en évidence des infections, des hémorragies, des kystes, des tumeurs. Il permet de localiser avec précision un organe par rapport à un autre et de guider des ponctions d'organes profonds évitant une intervention chirurgicale.

La radiographie et le scanner présentent des avantages notables au niveau de la résolution spatiale (10-100 μm) mais présentent un risque allergique avec l'agent de contraste, une limite d'exposition au rayonnement et ne permettent pas d'obtenir une analyse quantitative. De plus, ils restent limités pour différencier les tissus entre eux, rendant difficile une localisation précise des tumeurs au sein des tissus.

III.2 L'échographie

L'échographie est une technique d'imagerie employant les ultrasons. Les ultrasons sont des ondes acoustiques imperceptibles à l'oreille humaine. Comme toutes les ondes mécaniques, les ultrasons sont absorbés ou réfléchis par les substances qu'ils rencontrent. Ils permettent l'accès aux structures anatomiques à partir de l'amplitude des échos rétrodiffusés lors de la propagation d'impulsions mécaniques de haute fréquence dans les tissus (1 à 10 MHz). Ils se propagent parfaitement en milieu liquide, mais également dans les tissus biologiques naturellement riches en eau, s'ils ne sont pas calcifiés (os) ou remplis d'air (système respiratoire).

L'échographie permet d'étudier de nombreux organes de l'abdomen, du petit bassin, du cou (thyroïde, foie, rate, pancréas, reins, vessie) ainsi que les vaisseaux sanguins, les ligaments et le cœur. Elle permet plus précisément de rechercher des anomalies (telles que des tumeurs, des kystes et des malformations) et de guider des prélèvements (ponctions). L'application principale de l'échographie est le domaine de l'obstétrique. Pendant une grossesse, plusieurs échographies sont réalisées afin de vérifier la vitalité et le développement du fœtus, de dépister des anomalies et de déterminer le sexe de l'enfant. De plus, les ultrasons focalisés de haute intensité (HIFU pour l'anglais : High Intensity Focused Ultrasound) constituent une technique médicale permettant de

faire l'ablation thermique d'une tumeur chez les êtres vivants. Ces tumeurs peuvent être bénignes (fibromes utérins, adénofibrome) ou malignes (cancer des la prostate, du foie, de la thyroïde, etc.). Cette technique consiste à focaliser en un point les ondes ultrasonores de haute intensité. L'effet immédiat obtenu au sein des tissus biologiques est leur échauffement. Les températures atteintes sont de l'ordre de 60 °C. Par exemple, à 56 °C en une seconde, la dénaturation des protéines ou la nécrose peut être réalisée, et à > 43 °C durant 1 h, la sensibilisation à la chimio/radiothérapie.

Les ultrasons occupent une place de plus en plus importante en médecine du fait de leur caractère non ionisant, de leur faible prix, de leur capacité à fournir des informations en temps réel et de la diversité des applications qu'ils offrent. L'échographie offre une résolution spatiale de l'ordre du micromètre et permet d'obtenir des vitesses d'acquisition ultra rapides (plusieurs milliers voire dizaines de milliers d'images par seconde). Tout de même, lorsque les ultrasons sont utilisés à forte puissance (10000 fois plus élevée dans le cas des HIFU que dans le cas de l'imagerie à ultrasons), ils ont un effet biologique sur les tissus traversés. Cet effet peut avoir des conséquences sur les tissus en fonction des différents paramètres d'exposition aux ultrasons, qui peuvent aller du simple échauffement à la destruction pure et simple du tissu concerné. De plus, les limitations sont la mauvaise propagation dans les gaz et la forte atténuation dans les structures osseuses.

III.3 L'Imagerie par Résonance Magnétique

La technique d'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) est basée sur le phénomène de la Résonance Magnétique Nucléaire (RMN). Cette technique de spectroscopie a été découverte en 1946 par F. Bloch et E. M. Purcell.

Elle fait appel aux propriétés magnétiques des noyaux d'hydrogène, les protons, présents dans les molécules d'eau. Elle peut également utiliser d'autres noyaux possédant un spin tel que ^{19}F si un agent de contraste perfluoré est utilisé, mais vu l'abondance du proton et la qualité de sa réponse, cela en fait un candidat idéal. Ces protons sont munis d'un moment magnétique ou spin qui peut occuper deux positions. L'application d'une onde de radiofréquence permet de modifier les états énergétiques des spins. Lors de la coupure de l'onde de radiofréquence, les spins retournent dans leur état fondamental en restituant de l'énergie sous la forme d'un signal IRM. Ce signal dépend de la concentration locale en protons et des relaxations longitudinales et transverses T1, T2 des protons contenus dans les tissus imagés. L'IRM permet ainsi la lecture des images pondérées en T1, T2 ou en densité de proton.

En observant, sous l'effet d'un champ magnétique intense, la résonance des noyaux d'hydrogène (présents en abondance dans l'eau et les graisses des tissus biologiques), on peut visualiser la structure anatomique d'un organe. Cette méthode, dite IRM anatomique, peut être utilisée pour le diagnostic des tumeurs cancéreuses ou pour localiser certaines malformations. On peut suivre également certains aspects du métabolisme ou du fonctionnement des tissus (IRM fonctionnelle). La méthode la plus utilisée actuellement est celle basée sur l'aimantation des noyaux d'hydrogène de l'hémoglobine contenue dans les globules rouges du sang. L'hémoglobine se trouve sous deux formes : les globules rouges oxygénés par les poumons contiennent de l'oxyhémoglobine (molécule paramagnétique en RMN) ; les globules rouges désoxygénés par le métabolisme des tissus contiennent de la désoxyhémoglobine (diamagnétique en RMN). En suivant la perturbation du signal par cette molécule, il est donc possible d'observer l'afflux de sang oxygéné, qui chasse le sang désoxygéné, et ainsi les zones actives du cerveau. En faisant l'acquisition d'images à une cadence rapide (une image toutes les secondes), il est possible de suivre en direct, sous forme de film, les modulations de débit sanguin liées à l'activité cérébrale (Figure 24).

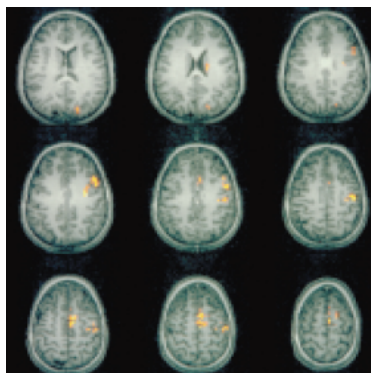


Figure 24 : IRM fonctionnelle cérébrale. Les régions en jaune correspondent aux zones corticales activées lors de la stimulation du sujet.⁶⁰

Cependant, lors d'un examen par IRM, certaines régions sont difficiles à visualiser : on accentue alors les contrastes en utilisant des agents de contraste, qui réagissent aussi au champ magnétique (ils sont paramagnétiques). L'injection d'agents de contraste a pour but d'accélérer les vitesses de relaxation magnétiques $1/T_1$ et $1/T_2$ des protons des molécules d'eau, c'est-à-dire de raccourcir le temps pendant lequel les spins de ces protons regagnent leur état initial après excitation par l'onde de radiofréquence. Il faut noter que ce n'est pas l'agent de contraste qui est visualisé en IRM mais son influence sur la relaxation des protons de l'eau située autour de l'agent de contraste. Ces agents permettent de détecter des tumeurs cérébrales, mammaires..., des pathologies ostéo-articulaires, et permettent de réaliser l'imagerie des vaisseaux sanguins (angiographie).

L'efficacité des agents de contraste en IRM repose sur la capacité des éléments paramagnétiques qu'ils contiennent à modifier les temps de relaxation T_1 et T_2 de l'eau, et donc à améliorer les contrastes des images. Du fait de ses propriétés paramagnétiques bien adaptées (sept électrons célibataires), l'ion gadolinium Gd^{3+} est l'élément de choix pour concevoir des agents de contraste IRM. Le gadolinium ne peut être utilisé sous sa forme ionique libre Gd^{3+} à cause de sa haute toxicité. Pour « masquer » cette toxicité, le gadolinium est injecté sous formes de complexes stables et inertes dans l'organisme (Figure 25).⁶¹

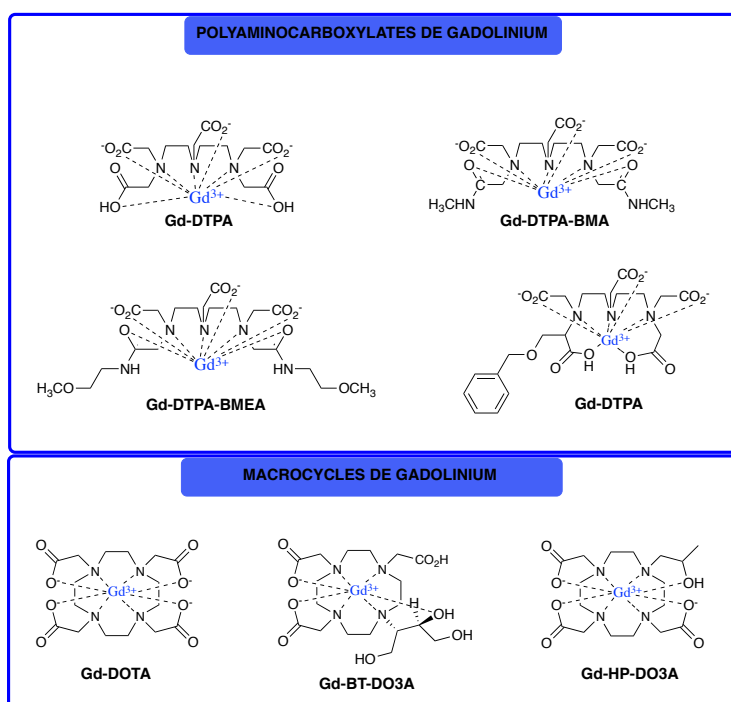


Figure 25 : Différents types de complexes de gadolinium (des agents de contraste commercialisés depuis les années 1980).⁶¹

L'imagerie par résonance magnétique est non invasive et sans irradiation. Elle permet d'obtenir des images dans tous les plans de l'espace, avec une très bonne résolution et un très bon contraste au niveau des tissus mous. En contrepartie, elle nécessite des aimants puissants, lourds, encombrants et très coûteux. C'est une technique avec une faible sensibilité impliquant un temps d'acquisition élevé pendant lequel le patient doit rester immobile dans une position inconfortable : maintien du patient à l'intérieur d'un tube étroit avec un bruit important. De plus, les tissus durs sont difficilement observables. L'analyse IRM est contre-indiquée pour les patients possédant du métal dans le corps (prothèse, pacemaker...), pour les femmes enceintes et pour les patients atteints d'insuffisance rénale, en cas d'injection d'agents de contraste.

III.4 L'imagerie radioisotopique

Le principe mis en jeu en imagerie radioisotopique (Tomographie par Émission MonoPhotonique, TEMP, ou de Positons TEP) est l'utilisation d'un isotope radioactif, seul ou greffé, afin de suivre par détecteur externe leur rayonnement. Les isotopes radioactifs présentent les mêmes propriétés physico-chimiques que leurs homologues non radioactifs. Cela permet dans certains cas d'obtenir une molécule marquée ayant la même pharmacocinétique et la même biodistribution que la molécule non marquée.

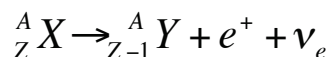
Pour être utilisable en imagerie médicale, l'isotope doit remplir certaines conditions :

- **l'énergie des rayons émis** : en imagerie SPECT, l'énergie des rayons gamma émis doit se situer entre 100 et 300 keV, des photons de plus faible énergie seraient trop atténués par les tissus, une énergie trop importante rendrait le traitement des données plus difficile pour donner des images de qualité moindre. En imagerie PET, l'énergie élevée des deux photons produits par l'annihilation (511 keV) rend le diagnostic plus délicat pour la santé du patient. Cependant, la très grande sensibilité de détection permet de travailler à très faible concentration (de l'ordre de la picomole) et de minimiser ainsi les risques lors de l'examen.
- **le temps de demie-vie** (correspond à la durée au bout de laquelle l'activité spécifique du radioélément est diminuée de moitié) : il doit être adapté à l'exploitation pratiquée. Il peut être suffisamment long pour permettre une fixation maximale du radiotraceur et obtenir ainsi des images de qualité, tout en étant suffisamment bref pour éviter une trop longue irradiation du patient.
- **accessibilité** : les isotopes issus du cyclotron doivent être produits directement sur site à l'hôpital pour les radioisotopes à vie courte, doivent être acheminés très rapidement quand la durée de vie le permet.

Le rayonnement gamma, qui par nature interagit peu avec la matière, est le rayonnement le plus utilisé en médecine nucléaire. Des isotopes émetteurs de rayonnements gamma ou des isotopes émetteurs de positons qui donnent naissance à l'émission de photons gamma sont donc utilisés.

III.4.1 L'imagerie TEP

Elle met en jeu des émetteurs β^+ . Ces isotopes possèdent un ratio protons sur neutrons trop élevé. Pour se stabiliser, un proton de cet émetteur se transforme en un neutron avec émission d'un positon e^+ et d'un neutrino électronique ν_e (Équation 1). Ce positon est appelé particule β^+ . L'élément fils Y créé au cours de cette désintégration n'est pas le même que l'élément père X puisqu'il possède un proton en moins.



Équation 1: Équation bilan de l'émission β^+ .

Une fois produit, le radiotraceur est injecté au patient, en général par voie intraveineuse. Lorsque l'atome radioactif se désintègre, le positon émis parcourt un trajet de quelques millimètres dans l'organisme avant de se combiner avec un électron. Les deux particules s'annihilent et donnent naissance à l'émission simultanée de deux photons gamma d'énergie fixe (511 keV) en ligne droite et dans deux directions opposées (Figure 26). Cette paire de photons est recueillie par la couronne de détecteurs de la γ -caméra située autour du patient (Figure 27). Cette technique permet de localiser très précisément le traceur dans l'organisme et sa sensibilité fait de l'imagerie par tomographie par émission de positons une méthode quantitative.

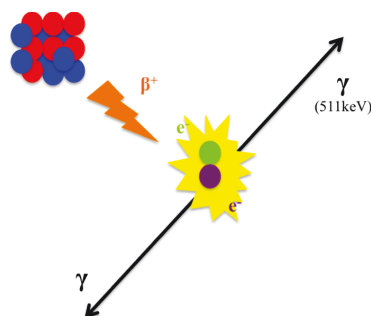


Figure 26 : Émission de deux photons γ issue d'un rayonnement β^+ .

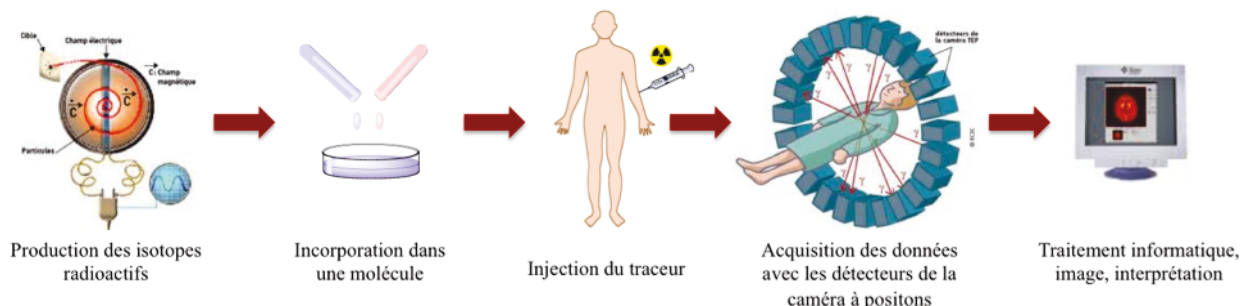
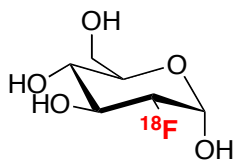
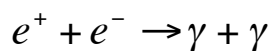
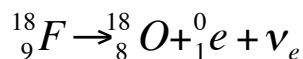


Figure 27 : Processus de l'imagerie par TEP.

Les radiotraceurs peuvent être utilisés seuls ou être incorporé dans différentes structures chimiques ou molécules biologiques. Pour l'imagerie TEP, il est important que l'élément utilisé n'ait pas d'autres décroissances radioactives que l'émission d'un positon. C'est le fluor-18 qui est le plus utilisé, depuis la mise au point de la synthèse du $[^{18}\text{F}]\text{-FDG}$ (FluoroDéoxyGlucose-18, Figure 28). Cet analogue fluoré du glucose va s'accumuler préférentiellement dans les cellules qui consomment du glucose, mais sa métabolisation est bloquée tant que le fluor-18 ne s'est pas transformé en oxygène-18 (Équation 2). Les cellules cancéreuses, par exemple, consomment plus de glucose que les cellules saines, ce qui permet de repérer par cette technique les sites tumoraux.

Figure 28 : Structure du [^{18}F]-FDG.Équation 2 : Transformation du fluor-18 *in situ*.

D'autres éléments peuvent être utilisés comme le carbone-11, l'azote-13 ou l'oxygène-15. Ils sont cependant plus difficiles à manipuler que le fluor-18 puisqu'ils possèdent des temps de demi-vie plus courts et qu'il faut souvent plusieurs étapes de synthèse ou de purification pour obtenir un radiotraceur contenant ces éléments. Certains métaux sont aussi de bons candidats pour l'imagerie TEP, ils présentent un avantage en termes de radiomarquage par rapport aux éléments présentés précédemment. En effet, un ligand adapté peut être préalablement préparé et seulement la dernière étape de complexation du centre métallique sera une étape impliquant un élément radioactif. On peut citer le cuivre-64, le gallium-68 ou le zirconium-89 (Tableau 1).

Isotopes	^{11}C	^{13}N	^{15}O	^{18}F	^{64}Cu	^{68}Ga	^{89}Zr
Temps de $\frac{1}{2}$ vie	20,4 min	10,0 min	2,1 min	1,83 h	12,7 h	1,10 h	78,5 h

Tableau 1 : Période des radioisotopes émetteurs β^+ courants.

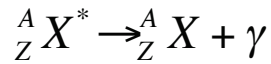
Le temps de demi-vie correspond à la durée au bout de laquelle l'activité spécifique du radioélément est diminuée de moitié. Il doit être adapté à l'exploitation pratiquée, soit suffisamment long pour permettre une fixation maximale du radiotraceur (et donc obtenir des images de qualité optimale), tout en étant suffisamment bref pour éviter une trop longue irradiation du patient.

La tomographie par émission de positons fournit des informations sur le fonctionnement des tissus normaux et pathologiques. Suivant l'isotope radioactif utilisé, elle donne au médecin des informations spécifiques sur le métabolisme de ses tissus : flux et volume sanguin, consommation cellulaire du glucose... En neurologie, elle permet par exemple de visualiser les pertes neuronales du système dopaminergique qui signent la maladie de Parkinson, ou bien encore les zones hyperactives du cerveau dans l'épilepsie. Elle offre en outre la possibilité de tester *in vivo* l'efficacité des médicaments, ce qui intéresse notamment la cardiologie dans la mise au point de nouveaux traitements.

En France, l'usage de la TEP est encore peu répandu : seuls cinq appareils à visée médicale sont installés, ceci s'expliquant en partie par le faible nombre de cyclotrons implantés. Or la proximité d'un cyclotron est absolument indispensable car les produits utilisés pour la TEP n'ont une durée de vie que de quelques heures.

III.4.2 L'imagerie TEMP

La tomographie par émission monophotonique utilise des isotopes radioactifs émetteurs de rayons γ . Pour les éléments émetteurs de rayons γ , plusieurs types de décroissance sont possibles. La transition isomérique est un réarrangement énergétique à l'intérieur du noyau souvent d'un état excité métastable vers un état fondamental avec émission simultanée d'un photon de haute énergie : un rayon γ . Aucune particule ne se transforme durant cette émission, l'atome fils est donc le même élément que l'atome père (Équation 3).



Équation 3 : Équation bilan d'une transition isomérique.

Les traceurs radioactifs émetteurs de rayons γ sont injectés au patient. Des γ -caméras qui tournent autour du patient vont capter les rayons γ et les convertir en données informatiques, grâce aux collimateurs, scintillateurs et photomultiplicateurs pour obtenir des cartes tomographiques de l'organe ou de la partie d'organe étudiée (Figure 29). Ce signal brut est ensuite traité par informatique pour reconstituer une image.

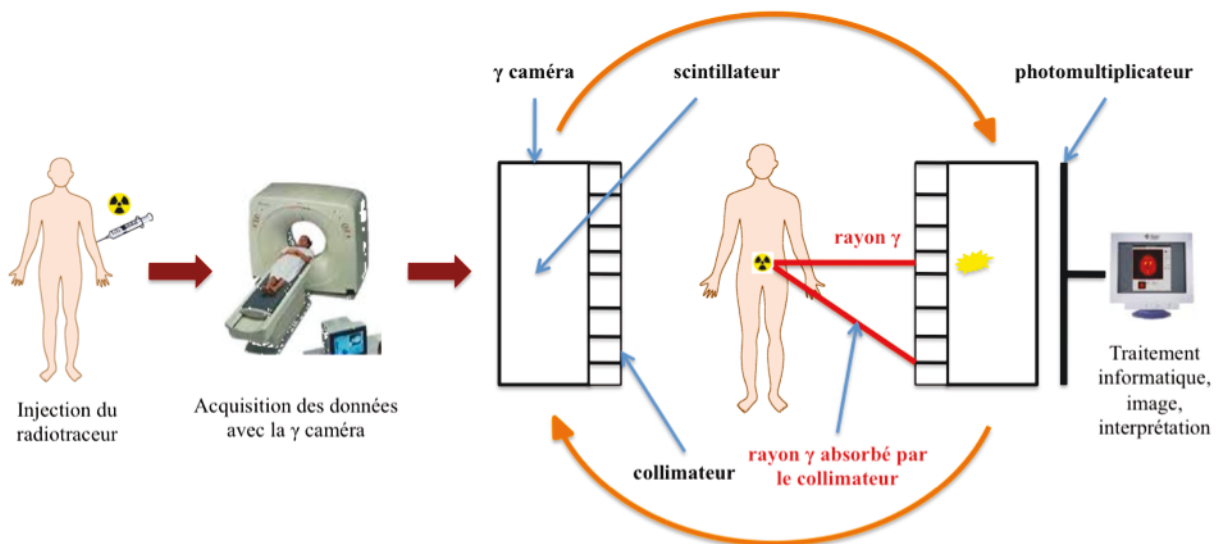
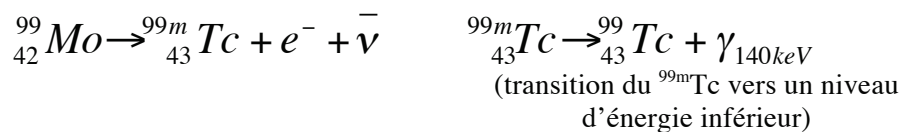


Figure 29 : Principe de fonctionnement de l'imagerie TEMP.

En imagerie TEMP, l'élément le plus utilisé est le technétium-99m, puisqu'il est employé dans plus de 80 % des analyses. Le technétium-99m est généralement produit grâce à un générateur ${}^{99}\text{Mo}/{}^{99\text{m}}\text{Tc}$ (Équation 4). Il est dans un état métastable, c'est à dire un état instable thermodynamiquement mais dont la cinétique est lente. Cet élément a beaucoup d'avantages, il possède une demi-vie relativement courte de 6 h et émet un photon γ à une énergie de 140 keV, ce qui permet d'obtenir une image bien résolue dans des conditions de sécurité acceptables.



Équation 4 : Équation bilan pour la production du technétium.

Cependant, il est remplacé lorsque la cinétique du phénomène biologique à étudier est relativement lente par rapport à sa décroissance. Dans ces conditions, le gallium-67 et l'indium-111, de période plus longue, peuvent avantageusement être substitués au technétium-99m (Tableau 2). L'indium-111 est en effet utilisé très fréquemment pour radiomarquer des anticorps monoclonaux, présentant généralement une cinétique de fixation beaucoup plus lente que certains petits peptides. Sa période physique de 67,3 h est alors idéale pour réaliser des images à plusieurs jours d'intervalle.

Isotopes	^{99m} Tc	¹¹¹ In	¹²³ I	⁶⁷ Ga	¹³³ Xe
Temps de $\frac{1}{2}$ vie	6,02 h	67,3 h	13,2 h	78,2 h	125,9 h

Tableau 2 : Période des radioisotopes émetteurs de photons uniques.

Les isotopes émetteurs de photons γ ne figurent pas dans les molécules biologiques comme le sont le carbone, l'oxygène, l'hydrogène, l'azote, le phosphore ou le soufre. Ils peuvent donc modifier l'activité de la molécule d'intérêt biologique dans laquelle ils sont incorporés.

À la différence de la TEP, la tomographie par émission de simple photon n'est pas une méthode quantitative. Elle permet de visualiser le fonctionnement d'un organe (cœur, poumons, reins, vessie, organes digestifs) ou de tout un système (système ortho-articulaire, système immunitaire...). Elle permet en procédant au marquage de certaines molécules de l'organisme, d'en étudier la circulation dans le corps (scintigraphie des globules blancs par exemple). Ces cellules « marquées » peuvent être visualisées sur la caméra car elles irradient de la lumière.

L'énergie fixe des rayons émis en imagerie TEP conduit à une détection plus sensible et plus précise qu'en imagerie TEMP, néanmoins, la gamme de radiopharmaceutiques disponible en TEMP est bien plus étendue et cette modalité demeure irremplaçable pour de nombreuses applications (exemple : suivi prolongé). D'autre part, les γ -caméras TEMP, plus simples techniquement et moins coûteuses que les caméras utilisés pour la TEP, sont beaucoup plus répandues en milieu hospitalier (cardiologie, scintigraphie osseuse...). Ces techniques sont considérées aujourd'hui comme complémentaires et constituent des méthodes de choix pour réaliser du ciblage moléculaire.

III.5 L'imagerie optique

Au cours des dix dernières années, l'imagerie directe de cellules vivantes est devenue un outil précieux pour étudier des processus biologiques. Notamment, les avancées technologiques dans le domaine de la bio-imagerie avec le développement de caméras CDD (Charge-Coupled Device) ultrasensibles à très haute résolution rendent aujourd'hui possible la détection de photons directement *in vivo* chez le petit animal. Ainsi, les techniques optiques offrent la possibilité d'un suivi spatio-temporel en temps réel de processus biologiques de façon non invasive directement au sein d'un organisme vivant. Elles restent la méthode la plus rapide (ns→ms) et la moins coûteuse pour imager avec une très bonne résolution des molécules ou des cellules sur le petit animal.⁶²

Dans cette partie, les techniques d'imagerie optique basées sur la fluorescence seront présentées. Dans un premier temps, le principe et les paramètres caractéristiques de la fluorescence seront exposés. Puis, suite à une explication des problèmes rencontrés lors de l'utilisation *in vivo*, les différentes molécules fluorescentes, plus particulièrement les fluorophores organiques, seront énoncées.

III.5.1 Principe de la fluorescence

La luminescence désigne l'émission de lumière visible, ultraviolette ou infrarouge d'une espèce donnée, depuis un de ses états excités.⁶³ Selon le mode d'excitation de cette espèce, le type de luminescence varie (photoluminescence, radioluminescence, chimiluminescence...). La fluorescence et la phosphorescence font parties de la photoluminescence puisqu'elles résultent d'une absorption de lumière (photons).

Lorsqu'une molécule se trouve dans son état excité après absorption d'un photon, elle revient spontanément à son état fondamental selon des voies très diverses (Figure 30) : par désexcitations radiative ou non radiative (sans émission de lumière). Le diagramme de Jablonski permet de visualiser les divers processus mis en jeu.⁶⁴

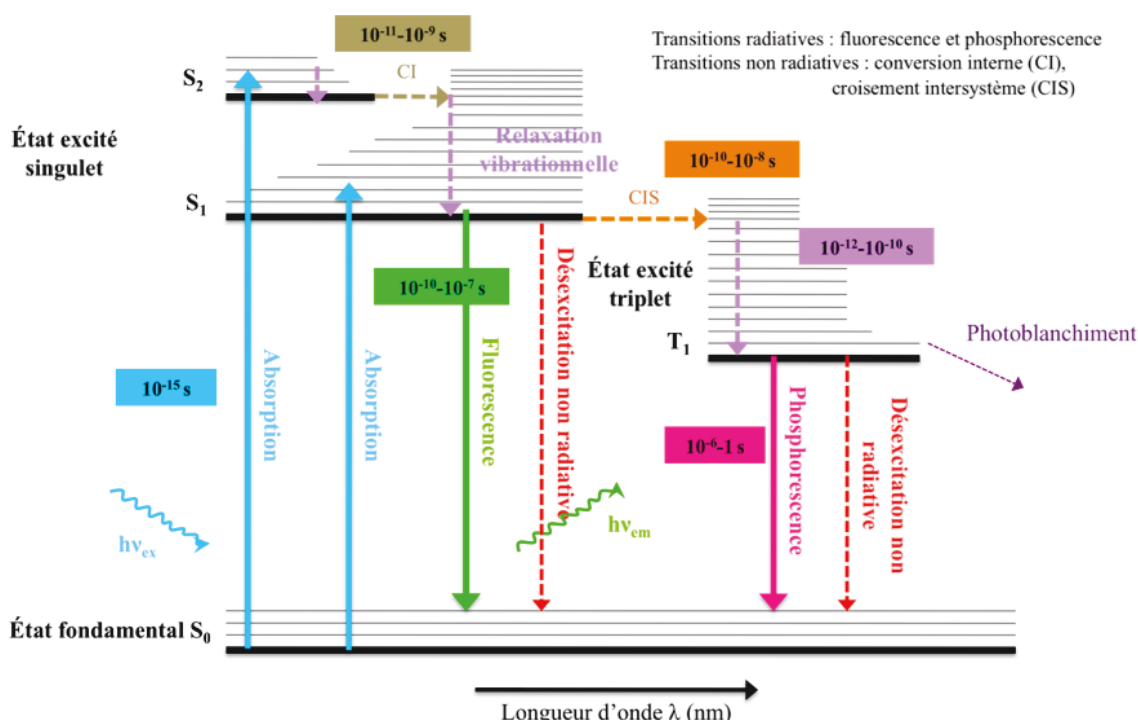


Figure 30 : Diagramme de Jablonski.

Les états électroniques singlets (de multiplicité de spin égale à 1) sont notés S_0 pour l'état fondamental (de plus basse énergie) puis S_1 , S_2 pour les deux premiers états excités. Les états triplets (de multiplicité de spin égale à 3) sont notés T_1 , T_2 ... À chaque état électronique excité sont associés des niveaux vibrationnels.

L'absorption est un phénomène très rapide au regard des autres processus : 10^{-15} s. En solution, l'absorption de la lumière se traduit par une décroissance exponentielle du faisceau incident, selon la loi de Beer-Lambert (Équation 5) où $A(\lambda)$ est l'absorbance à la longueur d'onde λ , I_0 l'intensité du faisceau incident, I_t l'intensité du faisceau transmis, l le chemin optique, $\varepsilon(\lambda)$ le coefficient d'absorption molaire à la longueur d'onde λ et C la concentration en chromophores.

$$A(\lambda) = \log \frac{I_0}{I_t} = \varepsilon(\lambda)lC$$

Équation 5 : Loi de Beer-Lambert.

La *conversion interne* est une transition non radiative entre deux états électroniques de même multiplicité de spin. En solution, ce processus est suivi d'une relaxation vers le plus bas niveau vibrationnel de l'état électronique final. En effet, l'excès d'énergie vibrationnelle peut être transféré au solvant lors des collisions de la molécule excitée avec les molécules de solvant environnantes.

L'émission de photons accompagnant la relaxation $S_1 \rightarrow S_0$ est appelée *fluorescence*. À quelques exceptions près, l'émission de fluorescence a lieu à partir de l'état S_1 et ses caractéristiques ne dépendent donc pas de la longueur d'onde d'excitation (à condition qu'une seule espèce à l'état fondamental soit excitée). Le spectre de fluorescence est situé à des longueurs d'onde plus grandes (ce qui correspond à des énergies plus basses) que le spectre d'absorption en raison de la perte d'énergie par relaxation vibrationnelle dans l'état excité. L'écart d'énergie entre les niveaux vibrationnels sont du même ordre dans S_0 et S_1 de telle sorte que le spectre de fluorescence est l'image dans un miroir du spectre d'absorption. L'écart (exprimé en nombres d'onde) entre le maximum de la première bande d'absorption et le maximum de fluorescence est appelé *déplacement de Stokes* (Figure 31). La détection d'une molécule fluorescente est d'autant plus facile que le déplacement de Stokes est grand. En effet, il est important que ce déplacement ne soit pas trop faible afin que les photons émis ne puissent pas être réabsorbés par le fluorophore lui même.

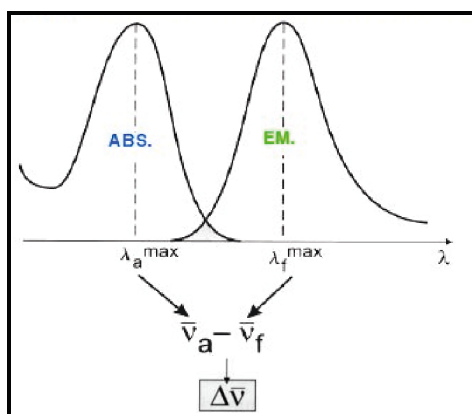


Figure 31 : Illustration de la définition du déplacement de Stokes.⁶⁵

Le *croisement intersystème* est une transition non radiative entre deux niveaux vibrationnels de multiplicités différentes. Cette transition est en principe interdite, mais le couplage spin-orbite peut-être suffisamment important (par exemple, en présence d'atomes lourds) pour la rendre possible.

Après le croisement intersystème, l'espèce excitée peut revenir à son état fondamental par désexcitation radiative, appelée *phosphorescence*. En solution, à température ordinaire, la désexcitation non radiative de l'état triplet $T_1 \rightarrow S_0$ l'emporte sur la désexcitation radiative. En effet, la désexcitation $T_1 \rightarrow S_0$ (due au couplage spin-orbite) demeure faible puisque cette transition est théoriquement interdite. Ceci se traduit par une valeur numérique de la constante de vitesse radiative qui peut être au moins de 100 à 1000 fois plus petite que pour une transition $S_1 \rightarrow S_0$. Lors d'un processus aussi lent, les nombreuses collisions avec les molécules de solvant favorisent le passage intersystème et la relaxation vibrationnelle au niveau S_0 . Au contraire, à basse température ou en milieu rigide, les collisions sont inhibées et une émission de phosphorescence peut être observée. Le spectre de phosphorescence se situe à des longueurs d'onde plus élevées que le spectre de fluorescence puisque le plus bas niveau vibrationnel de l'état triplet T_1 est situé en dessous de celui de l'état singulet S_1 .

III.5.2 Les paramètres caractéristiques de la fluorescence

Cinq grandeurs caractérisent une molécule fluorescente : la longueur d'onde d'émission λ_{em} (maximum du spectre), le coefficient d'absorption molaire, le rendement quantique, l'intensité et le temps de vie de fluorescence.

La longueur d'onde d'émission de fluorescence correspond à la longueur d'onde pour lesquelles les valeurs d'émission sont maximales. L'excitation d'un fluorophore à trois longueurs d'ondes ne change pas le profil d'émission correspondant. Par contre, l'intensité d'émission est proportionnelle à l'intensité de l'excitation (Figure 32).

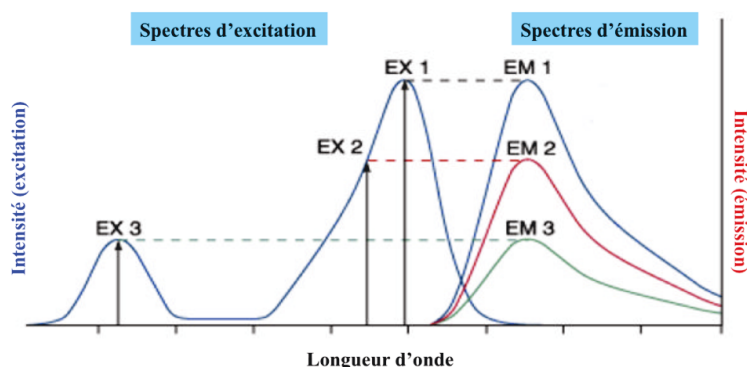
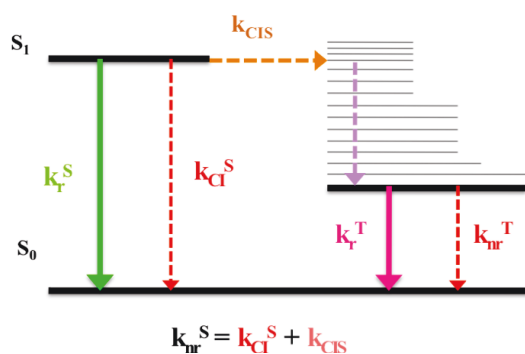


Figure 32 : Spectres d'émission pour différentes longueurs d'ondes et intensités d'excitation.⁶⁵

L'efficacité avec laquelle la lumière est absorbée à la longueur d'onde λ par un milieu absorbant est caractérisée par l'absorbance. Le coefficient d'absorption molaire ϵ est directement relié à la valeur de l'absorbance et à la concentration du chromophore en solution par la loi de Beer-Lambert (Équation 5). Plus le coefficient d'absorption molaire est grand, plus intense sera la fluorescence à intensité lumineuse incidente égale. Sa valeur peut constituer un critère pour le choix des chromophores et elle est comprise entre 5000 et 250 000 $\text{cm}^{-1} \cdot \text{M}^{-1}$. Une valeur au minimum de 30 000 est préférable pour une application en imagerie optique.

L'efficacité de fluorescence pour une molécule donnée est déterminée par le rendement quantique de fluorescence ϕ_F . Il représente la fraction de molécules excitées qui retournent à l'état fondamental S_0 avec émission de photons de fluorescence. Il s'exprime à l'aide des constantes de vitesse (Figure 33).



k_r^S : constante de vitesse pour la désexcitation radiative $S_1 \rightarrow S_0$ avec émission de fluorescence.

k_{CI}^S : constante de vitesse pour la conversion interne $S_1 \rightarrow S_0$.

k_{CIS} : constante de vitesse pour le passage intersystème.

k_r^T : constante de vitesse pour la désexcitation radiative $T_1 \rightarrow S_0$ avec émission de phosphorescence.

k_{nr}^T : constante de vitesse désexcitation non radiative $T_1 \rightarrow S_0$.

Figure 33 : Les constantes de vitesse des divers processus.⁶³

En d'autres termes, le rendement quantique de fluorescence est le rapport du nombre de photons émis (sur toute la durée du déclin de l'émission) sur celui des photons absorbés (Équation 6).

$$\phi_F = \frac{k_r^S}{k_r^S + k_{nr}^S}$$

Équation 6 : Calcul du rendement quantique d'émission de fluorescence.

En pratique, le rendement quantique du composé étudié est déterminé par comparaison avec un composé fluorescent de référence, dont il est souhaitable qu'il puisse être excité à la même longueur d'onde, et que le spectre d'émission couvre le même domaine que celui du composé à étudier. La valeur du rendement quantique se situe entre 0 et 1 (ou 100 %). Il représente donc l'efficacité de la fluorescence comparée aux autres modes de désexcitation. Plus cette valeur est importante, meilleure sera la détection du signal observé.

L'intensité de fluorescence ou brillance est proportionnelle au coefficient d'extinction molaire et au rendement quantique de fluorescence. Elle correspond au résultat du produit $\epsilon \times \phi$. Elle permet de comparer l'efficacité de plusieurs fluorophores.

La durée de vie correspond à la durée pendant laquelle un fluorophore demeure dans son état excité avant de revenir à son état fondamental S_0 . Elle est de l'ordre de la nanoseconde pour la plupart des fluorophores. La mesure de la durée de vie de fluorescence consiste à irradier un échantillon pendant un temps très court ($< 10^{-9}$ s) par un Laser (donnant une impulsion lumineuse) très puissant de longueur d'onde correspondant au fluorophore et de façon à faire passer le maximum de molécules à l'état excité. L'intensité de fluorescence est mesurée en fonction du temps afin de déterminer le temps de demi-vie de la fluorescence τ_F (Figure 34). Il s'agit d'une décroissance exponentielle de l'intensité de fluorescence en fonction du temps. La transformation logarithmique de l'intensité de fluorescence donne une droite dont le coefficient directeur de la pente est l'inverse de τ_F .

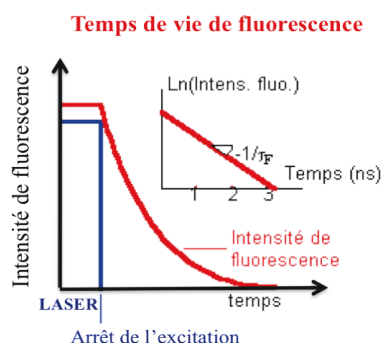


Figure 34 : Mesure de la durée de vie de fluorescence.³⁰

La durée de vie de fluorescence est représentée par une équation faisant intervenir les constantes de vitesse précédemment définies (Équation 7).

$$\tau_F = \frac{1}{k_r^S + k_{nr}^S}$$

Équation 7 : Calcul de la durée de vie à l'état excité S_1 .

De plus, dans certains cas, le phénomène de photoblanchiment peut être observé. Il s'agit d'une molécule participant à des réactions chimiques (appelées réactions photochimiques), en particulier avec l'oxygène, dans son état excité. Pour une molécule fluorescente, cela engendre alors une diminution au cours du temps de la fluorescence lors d'une irradiation en continue, et donc une perte du signal.

D'autres informations sur la fluorescence peuvent être obtenues par l'interprétation des spectres d'excitation. Ce spectre représente la variation de l'intensité de fluorescence en fonction de la longueur d'onde d'excitation, pour une longueur d'onde d'observation donnée. La forme du spectre d'excitation est identique à celle du spectre d'absorption à condition qu'une seule espèce soit présente à l'état fondamental. En revanche, lorsque la solution contient plusieurs espèces ou lorsqu'une seule espèce est présente sous plusieurs formes à l'état fondamental (agrégats, complexes...), les spectres d'excitation et d'absorption ne sont plus superposables. La comparaison entre le spectre d'absorption et le spectre d'excitation apporte souvent des informations intéressantes.

Finalement un bon fluorophore doit présenter un coefficient d'absorption molaire important, un fort rendement quantique, un faible rendement triplet, une durée de vie de l'état excité courte, un grand décalage de Stokes et un faible photoblanchiment.

III.5.3 L'imagerie optique dans le proche infrarouge

L'imagerie optique est aujourd'hui peu utilisée *in vivo* comparée aux autres techniques d'imagerie médicale. De nouvelles méthodes d'imagerie *in vivo* se développent à l'heure actuelle et permettent d'imager des sujets aussi bien à l'échelle du petit animal qu'à celle d'une cellule. En effet, la tomographie par fluorescence sur petit animal, la microscopie confocale ou la microscopie par fluorescence se sont développées et sont utilisées en biologie et en clinique à l'heure actuelle.⁶⁶

L'imagerie optique *in vivo* comporte des limitations intrinsèques. Les inconvénients majeurs sont la faible pénétration des rayonnements dans les tissus du fait de l'absorption, de la diffusion, de la réflexion, de la réfraction, ainsi que de l'autofluorescence des tissus biologiques.

La présence des tissus sur le trajet parcouru par la lumière fluorescente rend l'expérimentation *in vivo* beaucoup plus contraignante que dans le cas des études *in vitro*. En effet, l'eau, l'hémoglobine, les protéines et la mélanine qui composent principalement les tissus absorbent principalement dans l'UV et le visible. (Figure 35)

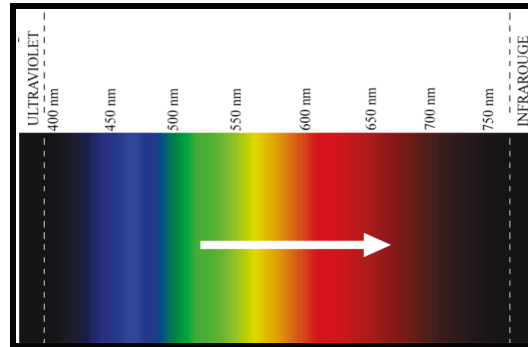


Figure 35 : Domaine du visible.⁶⁷

La fenêtre optique du rouge et du proche IR (entre 650 et 900 nm) apparaît optimale pour une imagerie *in vivo* puisque l'absorption globale des tissus biologiques est minimale (Figure 36). Cette zone est appelée *la fenêtre thérapeutique*. Dans cette région spectrale, l'absorption par l'hémoglobine du sang reste importante, mais la fraction volumique de sang dans les tissus est suffisamment faible (quelques pour cent) donc l'absorption moyenne demeure faible.

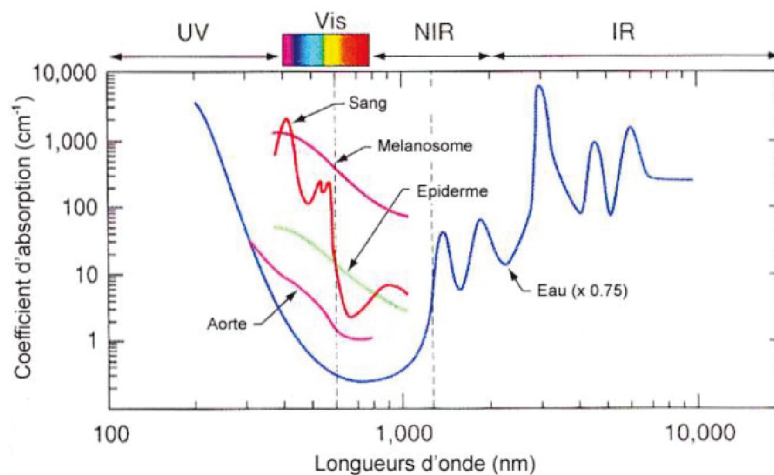


Figure 36 : Spectres d'absorption de différentes molécules présentes dans les tissus biologiques.⁶⁸

Le domaine du proche IR permet donc de réduire nettement l'autofluorescence des tissus biologiques. En effet, de nombreux organes (intestins, vessie...) sont fluorescents dans l'UV et le visible alors que pour des longueurs d'onde du proche IR, la fluorescence émise par ces organes est nettement inférieure (Figure 37). Dans cette zone, il est donc possible de visualiser les fluorophores injectés avec un contraste bien plus élevé.

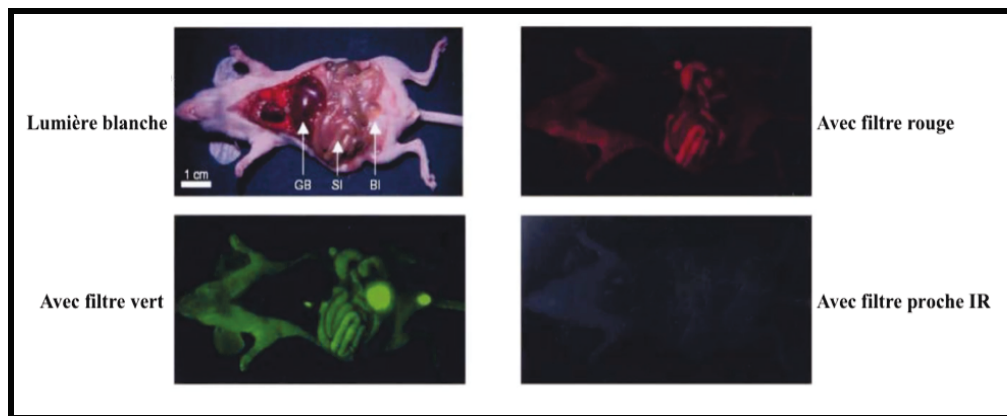


Figure 37 : Mise en évidence de l'autofluorescence des organes de la souris.⁶⁹

Les phénomènes de diffusion, de réflexion et de réfraction des tissus biologiques sont aussi à prendre en compte dans les inconvénients de l'expérimentation *in vivo*. En effet, la diffusion de la lumière lors de la traversée des tissus entraîne aussi une perte d'intensité et d'information, ce qui rend plus difficile la localisation exacte des fluorophores dans l'organisme. Cependant, cette diffusion est moins importante à des longueurs d'onde d'excitation et d'émission plus élevées, d'où l'utilité de travailler dans le domaine du proche IR.

La réflexion et la réfraction de la lumière incidente ou émise se produisent à l'interface des tissus (Figure 38).⁷⁰ Le faisceau incident et le signal émis sont respectivement déviés et reflétés lorsqu'ils rencontrent un milieu d'indice de réflexion différent. La transmission dépend de l'organisation des tissus car un photon est dévié de sa trajectoire lorsqu'il change de milieu. De même, le phénomène de réfraction dépend du milieu traversé par la lumière de son organisation plus ou moins filamenteuse et de son indice de réfraction.⁷¹

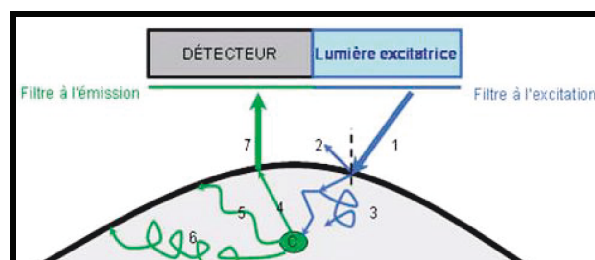


Figure 38 : Trajectoires des faisceaux excitateurs et émis dans le tissu biologique.⁷⁰

Le bilan de ces aspects optiques est que l'image va être floue et que la pénétration dans le tissu demeure limité.

Pour s'affranchir des limitations optiques qui existent dans les tissus, des fluorophores absorbant et émettant dans cette gamme de longueur d'onde (entre 650 et 900 nm) se développent à l'heure actuelle.

III.5.4 Les différentes molécules fluorescentes

L'efficacité et la puissance de la technique d'imagerie optique repose sur l'élaboration de marqueurs fluorescents. Il existe aujourd'hui une grande variété de sondes fluorescentes ayant chacune des caractéristiques propres.⁷² Parmi ces marqueurs, les nanocristaux semi-conducteurs, les protéines fluorescentes et les molécules organiques fluorescentes sont distingués.

III.5.4.1 Les nanocristaux semi-conducteurs

Ces dernières années, la forte activité de développement de marqueurs fluorescents a conduit à de nouveaux types de marqueurs tels que les nanocristaux semi-conducteurs de 5 à 50 nm de diamètre appelés *Quantum Dots* (signifiant *boîtes quantiques*).⁷³⁻⁷⁷ Ils sont généralement constitués d'un cœur de séléniure cadmium (CdSe) recouvert d'une couche de sulfure de zinc (ZnS) puis d'une couche de polymère amphiphile comme des polyéthylènes glycol (PEG) permettant la solubilisation et la biocompatibilité de ces particules (Figure 39-A). Ce sont des espèces qui réagissent avec la lumière excitatrice (principalement dans le domaine de l'UV à 365 nm). Plus les particules sont grosses, plus elles émettront vers les longueurs d'onde élevées (Figure 39-B).

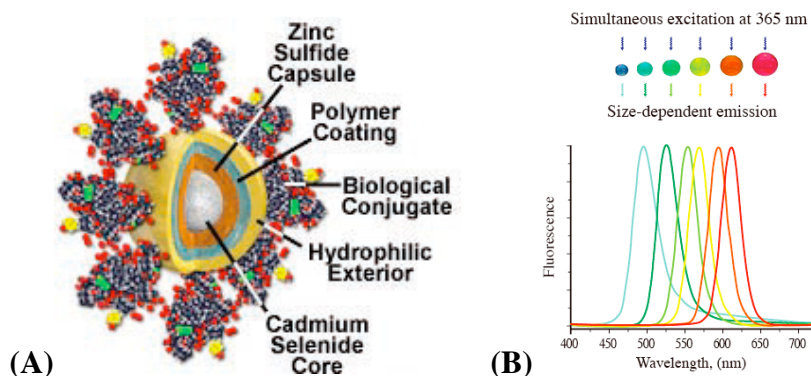


Figure 39 : (A) Structure du cœur d'un quantum dot. (B) Caractéristiques spectrales des quantum dots en fonction de leur taille.⁷⁸

Afin de les vectoriser, ces particules inorganiques peuvent être couplées à des anticorps, peptides ou acides nucléiques par des groupements aussi divers que pour les molécules organiques.⁶⁹

Les quantum dots peuvent présenter de nombreux avantages tels qu'un fort rendement quantique, une forte stabilité (plus stables que les molécules organiques fluorescentes) et un faible photoblanchiment. Néanmoins, leur utilisation en tant que marqueurs pour l'imagerie moléculaire reste limitée par leur toxicité liée à leur cœur constitué de métaux lourds, et leur taille pose certains problèmes pour une administration *in vivo* (réaction immunitaire, mauvaise biodistribution et élimination).⁷⁹⁻⁸²

III.5.4.2 Les protéines fluorescentes

Les fluorophores synthétiques ne sont pas les seuls utilisés en imagerie de fluorescence. En effet, il existe certaines protéines naturelles qui ont des propriétés de fluorescence, comme la GFP (Green Fluorescent Protein) (Figure 40). En 2006, le prix nobel de chimie a été attribué à R. Tsien, M. Chalfie et O. Shimomura pour la découverte de la GFP et sa mise au point comme marqueur. Cette protéine issue d'une méduse (*Aequorea victoria*) a été véritablement découverte en 1962 par O. Shimomura,⁸³ clonée par Prasher en 1992⁸⁴ et sa structure a été élucidée par Remington en 1996 par cristallographie.⁸⁵

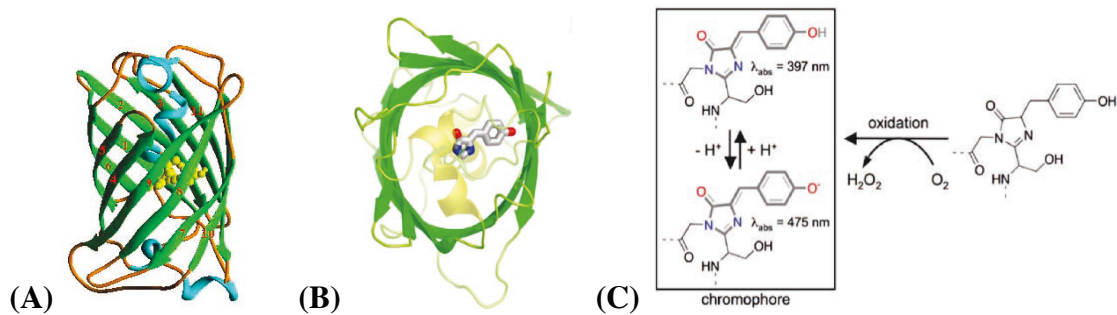


Figure 40 : Structure de la GFP. (A) Vue de profil. (B) Vue de dessus. (C) Formation du chromophore.⁸⁵

La GFP possède deux pics d'excitation à 397 nm et à 475 nm et un pic d'émission à 508 nm et donc une excitation par la lumière dans le bleu et une émission dans le vert (Figure 41-A). La substitution de certains groupements de la GFP permet d'obtenir plusieurs variantes de la GFP (EGFP, BFP, CFP, YFP...) (Figure 41-B) émettant à des longueurs d'ondes différentes (Figure 41-C).

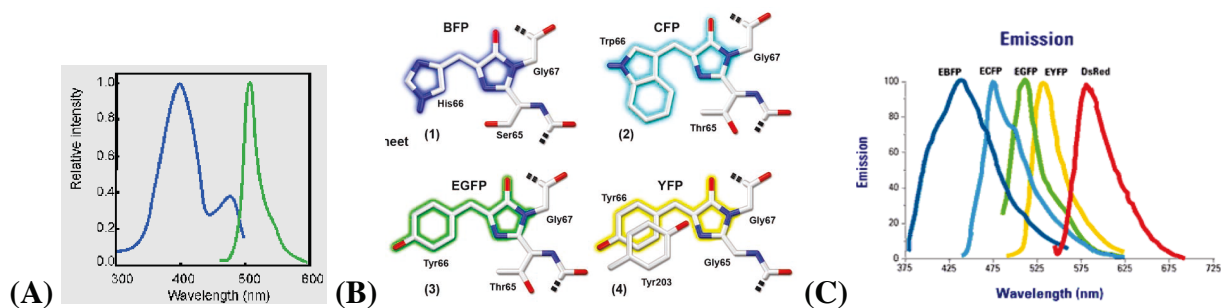


Figure 41 : (A) Caractéristiques spectrales de la GFP. (B) Formule des chromophores des dérivés de la GFP.^{86,87} (C) Caractéristiques spectrales de ces dérivés.

Ainsi, une gamme de protéines fluorescentes est disponible. Cependant, les protéines fluorescentes émettant dans le domaine du proche IR sont peu nombreuses. Récemment, la protéine IFP1.4 (Infrared-Fluorescent Protein), issue de la bactérie *Deinococcus radiodurans*, a été découverte (Figure 42-A). Elle est excitée à 680 nm et émet de la fluorescence à 710 nm (Figure 42-B).⁸⁸ Cette protéine apparaît très intéressante pour une utilisation *in vivo* mais elle nécessite l'injection de biliverdine qui s'incorpore dans le chromophore pour son catabolisme oxydatif.

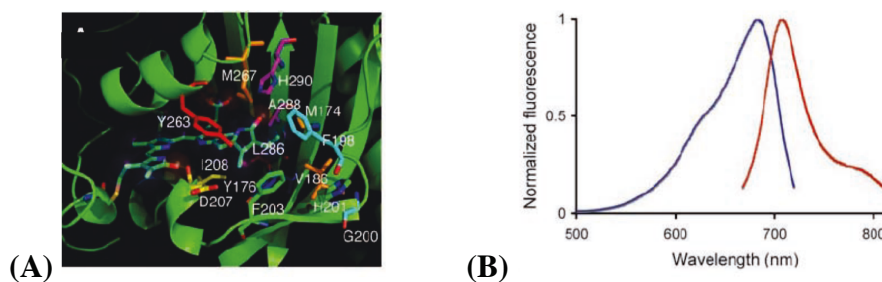


Figure 42 : (A) Structure de l'IFP1.4 et de la biliverdine incorporée.⁸⁸ (B) Caractéristiques spectrales de la protéine IFP1.4.

Cette dernière protéine semble répondre aux besoins de l'imagerie du petit animal mais l'injection de la biliverdine est indispensable pour un signal de fluorescence correct. Bien que sa biodistribution ne semble pas poser de problèmes, son utilisation dans les expériences *in vivo* devra être confirmée par d'autres études.

III.5.4.3 Les molécules organiques fluorescentes

Les molécules organiques fluorescentes sont des molécules synthétiques possédant, généralement, des cycles aromatiques fortement conjugués à base de cycles benzéniques et de différents hétérocycles. Actuellement, il existe une grande variété de fluorophores organiques utilisés en biologie et répertoriés dans des revues récentes.^{64,89,90}

Historiquement, la fluorescéine isothiocyanate (FITC) a été une des premières molécules à être utilisée en biologie pour le marquage fluorescent de biomolécules (Figure 43-A).⁹¹ La fluorescéine a été synthétisée pour la première fois par Adolf Von Baeyer en 1871. Ce fluorophore, très soluble dans l'eau et dépendant du pH, existe sous plusieurs formes protonées ou neutres. De nombreux dérivés de la fluorescéine ont été synthétisés pour modifier ses propriétés de fluorescence, de photostabilité et de sensibilité au pH. Les dérivés de la rhodamine (rhodamine B, rhodamine 6G, rhodamine 123) sont également très utilisés pour le marquage biologique,⁹² ou pour la détection sélective d'ions dans l'eau (Figure 43-B).⁹³ Ces espèces chargées, donc solubles dans l'eau, possèdent des coefficients d'extinction molaire et des rendements quantiques d'émission élevés. L'utilisation de ces deux familles de fluorophore est limitée par leur sensibilité aux variations de pH et par leur photosensibilité.

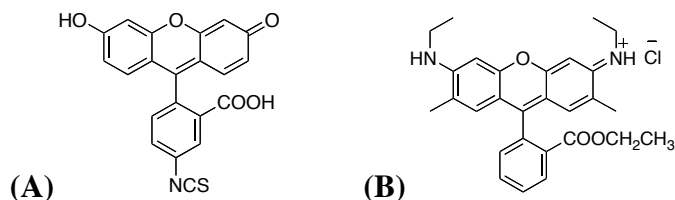


Figure 43 : (A) Structure de la fluorescéine (FITC). (B) Structure de la rhodamine 6G.

Une gamme de molécules synthétiques fluorescentes appelées *Alexa Fluor* ayant des longueurs d'onde d'absorption et d'émission allant du domaine de l'UV au domaine du proche IR sont disponibles actuellement dans le commerce par Molecular Probes® (Figure 44-A).⁹⁴ La substitution par différentes fonctions et des cycles aromatiques de ces molécules fait varier leurs caractéristiques spectrales (Figure 44-B). Ces fluorophores sont généralement chargés négativement et hydrophiles. Ils sont moins sensibles à la photodégradation et aux variations de pH que les molécules d'origine (fluorescéine, rhodamine...) (Figure 44-C).

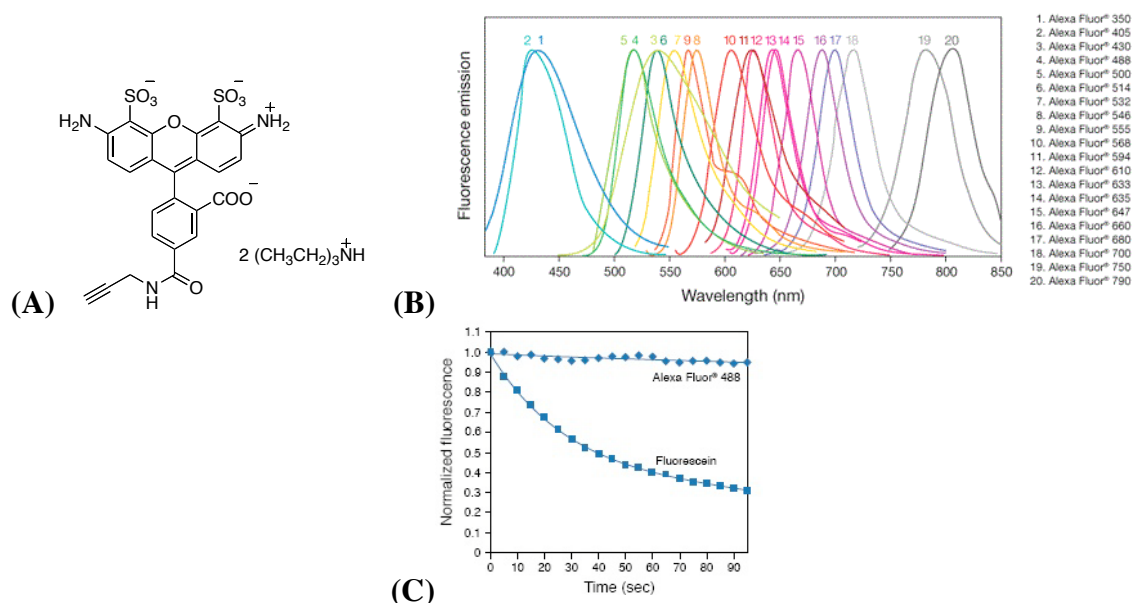


Figure 44 : (A) Structure de la molécule d'Alexa Fluor 488 alcyne. (B) Spectres d'émission des différentes molécules d'Alexa Fluor disponibles chez Molecular Probes®. (C) Données de Molecular Probes® comparant la photostabilité de l'Alexa Fluor 488 et celle de la fluorescéine.⁹⁴

Un autre exemple de molécules aux propriétés intéressantes pour l'imagerie optique est la famille des cyanines et plus particulièrement l'indocyanine verte (Figure 45).⁹⁵ En effet, l'indocyanine verte est, à l'heure actuelle, la seule molécule organique possédant des propriétés d'absorption et d'émission dans le proche IR ($\lambda_{\text{abs}} = 775 \text{ nm}$ et $\lambda_{\text{em}} = 831 \text{ nm}$) à être testée sur des patients humains.⁸⁹ Les dérivés de la cyanine sont hydrosolubles et possèdent des coefficients d'absorption élevés, malgré leurs rendements quantiques faibles (1-18%).⁷⁷

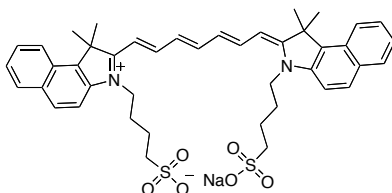


Figure 45 : Structure de l'indocyanine verte.

De nombreuses variantes de ces molécules ont été synthétisées pour améliorer les propriétés photophysiques, pour les fonctionnaliser et les vectoriser.^{96,97}

D'autres systèmes ont été récemment développés et commercialisés par Molecular Probes®, basés sur l'utilisation des dipyrrométhènes de bore, communément appelés BODIPYs (Figure 46). Les bodipys combinent les propriétés favorables des cyanines, comme la forme spectrale du spectre d'absorption et d'émission, ainsi qu'un coefficient d'extinction molaire élevé. Ces systèmes feront l'objet du chapitre n°1.

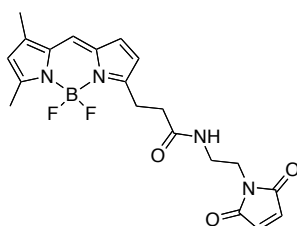


Figure 46 : Exemple d'une structure du bodipy de chez Molecular Probes®.

L.D. Lavis et R.T. Raines ont regroupé dernièrement sur un graphique les principaux fluorophores potentiellement intéressants pour l'imagerie optique (Figure 47).⁹⁰ Les fluorophores émettant dans le visible (exemple : 17, 24, 18) et dans le proche IR (25, 27, 28) sont représentés. Aujourd'hui, la recherche s'oriente vers l'utilisation de fluorophores organiques applicable à l'imagerie *in vivo*.^{95,98,99}

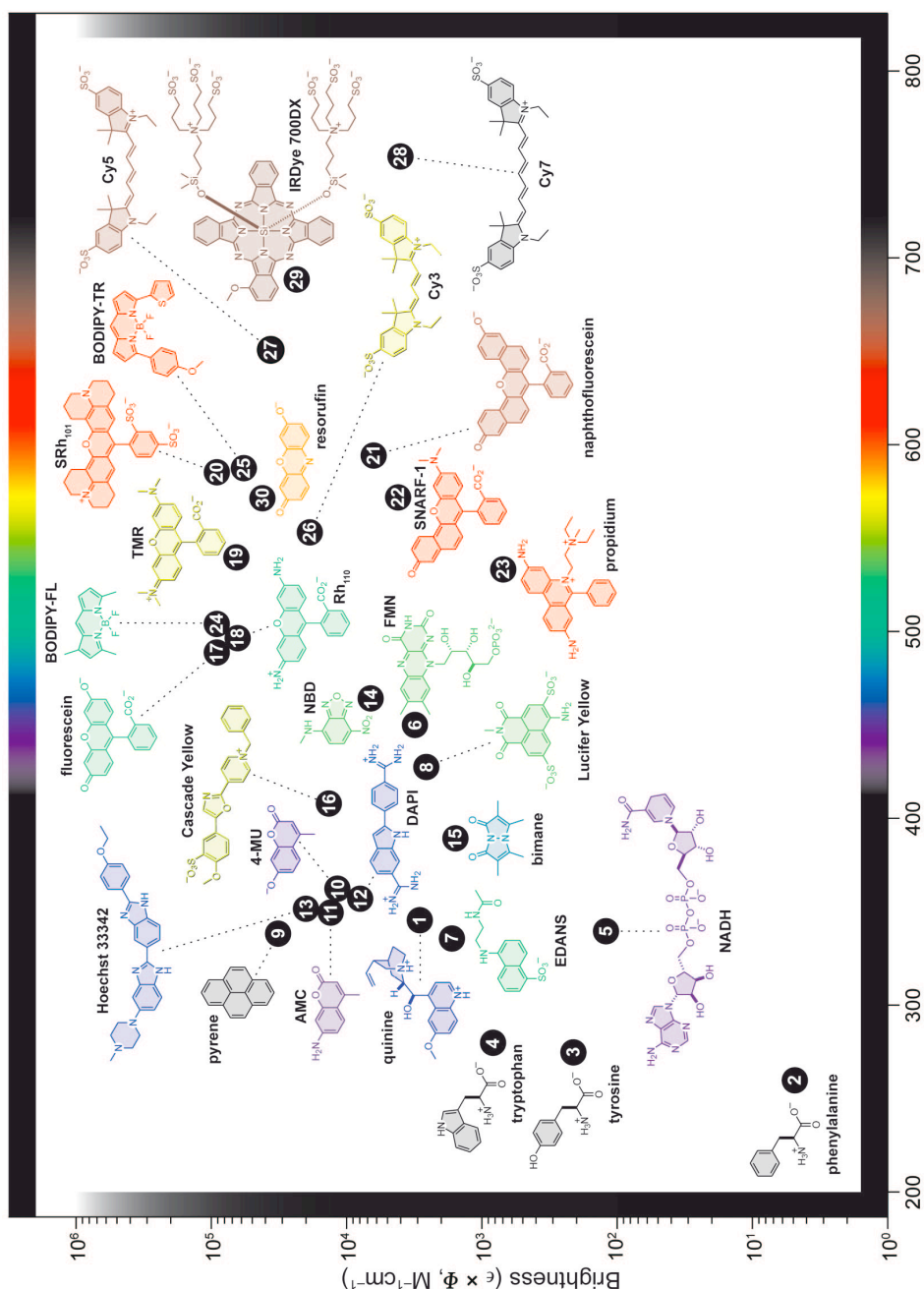


Figure 47 : Graphique représentant la brillance de différents fluorophores organiques en fonction de la longueur d'onde d'émission.⁹⁰

IV. INTÉRÊTS DES MÉTAUX EN ONCOLOGIE

Les composés organométalliques sont réputés pour leurs applications remarquables dans les domaines de la catalyse mais beaucoup moins connus pour leur potentiel en biologie. La recherche sur les médicaments anticancéreux pour la chimiothérapie à base de métaux est relativement récente et résulte de la découverte de Rosenberg en 1969 sur l'activité inhibitrice du *cis*-diaminedichloroplatine(II) (cisplatine) sur la croissance des tumeurs.^{56,100} Suite à cette découverte, la recherche sur des agents anticancéreux à base de métaux a explosé. Ces trois dernières décennies, le cisplatine est devenu un des agents majeurs dans la lutte contre le cancer et aujourd'hui les dérivés du platine font partie de plus de 70% des cocktails chimiothérapeutiques. Malgré son succès, le cisplatine présente des inconvénients qui incluent une toxicité générale assez importante comme la néphrotoxicité (insuffisance rénale aiguë), la neurotoxicité (substances affectant les cellules nerveuses pouvant conduire à des troubles de la vue et des autres sens, une paralysie générale, éventuellement suivie d'une paralysie des muscles de la respiration, conduisant à la mort) et l'émétogène (nausées et vomissements aigus), limitant ainsi les doses injectées aux patients.¹⁰¹ Divers composés à base de platine (carboplatine, oxaloplatine) ont été synthétisés et sont utilisés aujourd'hui en thérapie anticancéreuse pour tenter de pallier les effets secondaires du cisplatine et son manque d'efficacité sur certains types de tumeurs (Figure 48).¹⁰²

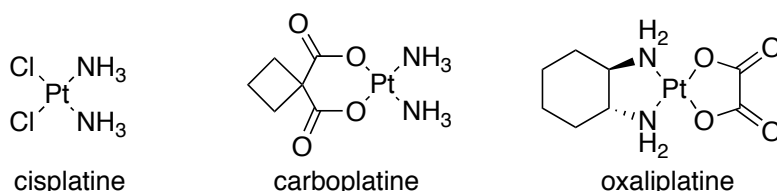


Figure 48 : Structures du cisplatine, carboplatine et oxaliplatine.

Ces différents complexes peuvent être distingués par la nature des ligands (X et L). Les ligands L sont responsables de la vectorisation (transport *in vivo* et passage à travers les membranes). Les ligands X sont des ligands hydrosolubilisables. Dans un premier temps, une hydrolyse de la liaison Pt-Cl du complexe a été constatée, ce qui génère une espèce active $[Pt(NH_3)_2(H_2O)_2]^{2+}$. Ainsi, le complexe aqua se lie à l'ADN avec une haute affinité et joue son rôle d'agent anticancéreux. Son activité cytostatique (inhibition de croissance) vient du fait qu'il empêche la division cellulaire en se fixant sur l'ADN. Les complexes de platine agissent en formant des adduits sur deux purines adjacentes (1,2) (Figure 49-a) ou deux purines séparées par une troisième base (1,3) (Figure 49-b), ou enfin, plus rarement, par pontage entre deux guanines appartenant à deux brins opposés (Figure 49-c).^{103,104}

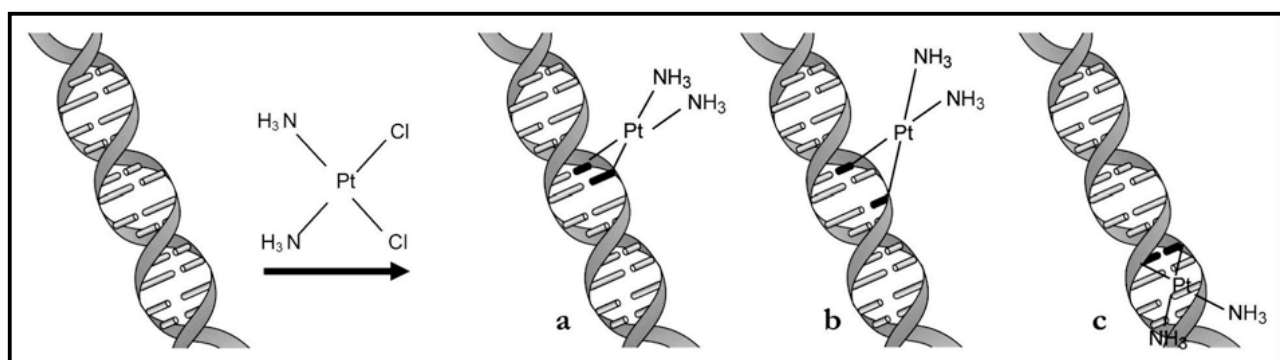


Figure 49 : Mode d'action du cisplatine sur l'ADN.

Les agents chimiothérapeutiques à base de platine (cisplatine, carboplatine, oxaliplatine) sont efficaces mais présentent de nombreux effets secondaires non négligeables pour les patients et induisent des mécanismes de résistance. Suite à la découverte des propriétés intéressantes du cisplatine, la chimie organométallique a eu du succès en raison des différents blocs de construction à partir de laquelle ils peuvent être construits, la variété des interactions disponibles (liaison hydrogène, π -stacking, liaison de coordination), la combinaison de la rigidité autour du métal et de la flexibilité dans les ligands, la cinétique de substitution de ligand lorsqu'il y a formation de liaisons de coordination avec les biomolécules et en raison de leur stabilité électrochimique.

Afin de surmonter les limitations du cisplatine, la recherche s'est orientée vers l'utilisation d'autres complexes métalliques, outre le platine, conduisant ainsi à des milliers de molécules avec divers degrés de succès. Actuellement, seuls les composés à base de ruthénium et d'or se sont avérés réellement prometteurs.

IV.1 Les dérivés du ruthénium et de son analogue osmium

Dans la partie suivante, nous allons présenter différents complexes de ruthénium conçus pour mimer l'action des complexes de platine et présentant une activité antitumorale *in vitro* ou *in vivo*.

IV.1.1 Les dérivés du ruthénium

Le ruthénium semble être une alternative intéressante au platine. Il est supposé que les médicaments à base de ruthénium aient le même mécanisme d'action que le cisplatine. Le ruthénium présente une large gamme d'états d'oxydation (Ru^{II} , Ru^{III} et Ru^{IV}) facilement accessibles dans les conditions biologiques. Ces différents états d'oxydation sont intéressants puisque l'activité des médicaments à base de métaux dépend de leur état d'oxydation. De plus, le ruthénium peut échanger facilement certains de ses ligands avec des molécules oxygénées et/ou azotées d'une manière similaire aux composés de platine (leur géométrie octaédrique offre des possibilités uniques pour se lier aux acides nucléiques). Deux principales raisons permettent d'expliquer la tolérance *in vivo* des complexes de ruthénium. La première raison est que la majorité de ces complexes dans les médicaments se trouvent initialement à l'état d'oxydation +III et sont considérés inactifs à cet état d'oxydation. *In vivo*, l'ion $\text{Ru}(\text{III})$ est réduit en $\text{Ru}(\text{II})$ qui est l'espèce active. Cette réduction a principalement lieu au cœur des tumeurs, en effet, dans les tumeurs solides la faible teneur en oxygène et le milieu acide peut créer un environnement réducteur. Un tel phénomène est appelé *activation par réduction*.¹⁰⁵⁻¹⁰⁷ La deuxième raison est la capacité à mimer le fer dans la liaison avec les molécules biologiques telles que l'albumine et la transferrine.¹⁰⁸ La transferrine est la protéine qui délivre le fer aux cellules et ses récepteurs sont surexprimés à la surface des cellules cancéreuses. Ainsi, les complexes de ruthénium s'accumulent préférentiellement dans les cellules à croissance rapide telles que les tumeurs, résultant une toxicité beaucoup plus faible que les médicaments à base de platine.¹⁰⁹⁻¹¹¹

L'intérêt pour l'activité anticancéreuse potentielle des composés de ruthénium a d'abord été examiné par Clarke et *al.* en 1980 en étudiant les dérivés du chloroamines de formule $[\text{cis-Ru}(\text{NH}_3)_4\text{Cl}_2]$ (Figure 50).¹⁰⁶ Ce complexe présente un effet similaire au cisplatine sur des cellules bactériennes dans des concentrations identiques. En raison de leur faible solubilité, ces complexes n'ont pas été utilisés cliniquement malgré leur activité.¹¹²

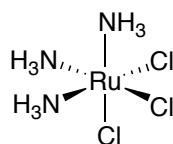


Figure 50 : Structure du dérivé ruthénium chloroamine.

Afin de pallier ce problème de solubilité, Mestroni et *al.* ont développé des complexes de ruthénium à base de DMSO *cis*- et *trans*-[Ru(DMSO)₄Cl₂] (Figure 51). Ils ont présenté des activités anticancéreuses et une interaction avec l'ADN *in vitro* et *in vivo*.^{113,114} Différentes études ont montré que le composé *trans*-[Ru(DMSO)₄Cl₂] est plus actif que l'isomère *cis* dues à une création de liaison plus rapide avec l'ADN.¹¹⁵



Figure 51 : Structures des complexes *cis*- et *trans*-[Ru(DMSO)₄Cl₂].

Aujourd'hui, deux complexes de ruthénium(III), le KP1019 (*trans*-[RuCl₄(Ind)₂]IndH avec Ind = indazole) et le NAMI-A (*trans*-[RuCl₄(DMSO)(Im)]ImH avec Im = imidazole), ont passé avec succès les tests cliniques de la phase I et sont actuellement en cours de la phase II (Figure 52).^{108,116,117}

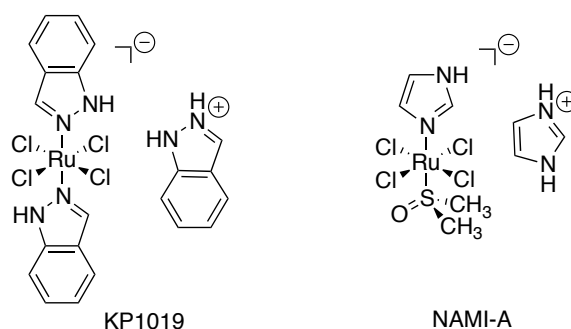


Figure 52 : Structures des composés NAMI-A et KP1019.

KP1019

Des études ont montré que le complexe KP1019 réagit dans un premier temps avec une protéine, la transferrine, afin de traverser la membrane plasmique. La réaction du KP1019 avec la transferrine est légèrement plus rapide qu'avec l'albumine du sérum humain. Le changement structural imposé par la fixation à la transferrine empêche probablement la protéine de se lier à son récepteur, ce qui se traduit par une faible accumulation du ruthénium sur la membrane. Ensuite, la libération de la protéine peut avoir lieu dans les endosomes à un faible pH en présence de chélateurs biologiques.¹¹⁸ Dans un premier temps, l'ADN a été considéré comme la cible critique du KP1019 et différentes études sur la liaison avec l'ADN ont été donc réalisées.^{107,117,119-121} L'induction de l'apoptose des cellules cancéreuses par la voie mitochondriale intrinsèque n'exclut pas la possibilité que la liaison avec l'ADN déclenche le processus apoptotique.¹⁰⁸ Mais l'apparition relativement rapide de la dépolarisation de la membrane des mitochondries suggère qu'une interaction directe avec les mitochondries pourrait être impliquée dans le mécanisme d'action du KP1019 (Figure 53). Il est

cytotoxique envers les tumeurs primaires et plus précisément envers les cellules des carcinomes colorectaux murins et humains.

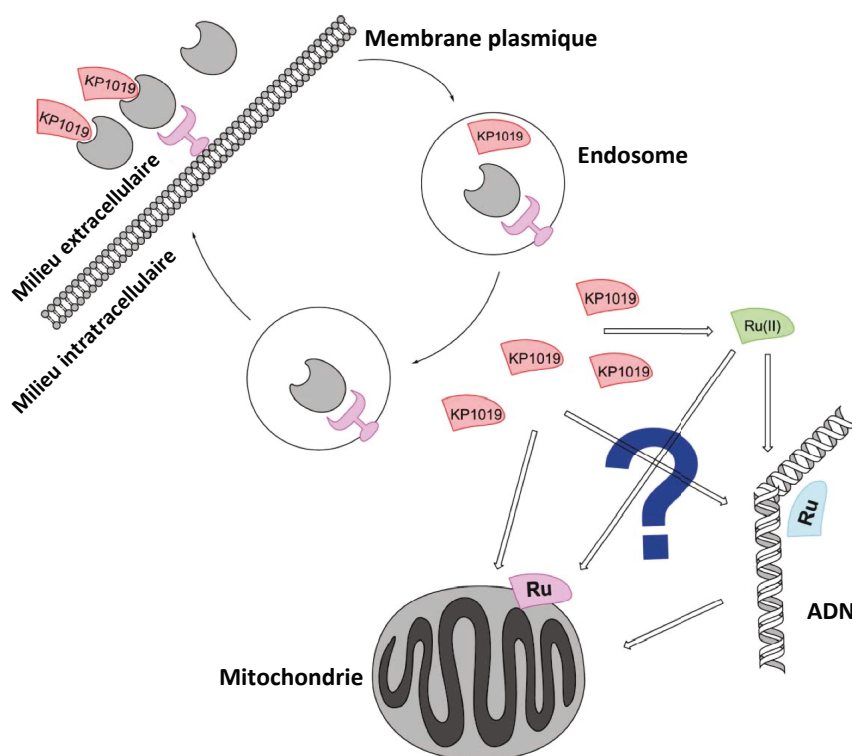


Figure 53 : Représentation schématique du mode d'action du KP1019.¹²²

NAMI-A

Le NAMI-A est inactif à pH physiologique (pH = 7,4). Les cellules cancéreuses contiennent généralement une plus faible concentration d'oxygène, des niveaux élevés de glutathion et un pH plus bas que les tissus normaux créant une réduction de l'environnement. En entrant dans les cellules cancéreuses, NAMI-A au degré d'oxydation +III est réduit en Ru(II) et forme un agent anticancéreux actif.

Le NAMI-A présente une activité biologique très différente du KP1019 malgré sa ressemblance structurale. Il réduit la formation de métastases pulmonaires et a peu d'impact sur les tumeurs primaires.¹²³ Le mécanisme d'action de ce composé peut être attribué à de multiples interactions à l'intérieur et à l'extérieur des cellules tumorales : a) il bloque la progression du cycle cellulaire à la phase pré-mitotique G₂M par accumulation sur l'enzyme CDK1 (Cyclin Dependant Kinase, permet de contrôler des différentes phases du cycle cellulaire), b) il régule l'adhérence cellulaire dépendant de l'actine et le remodelage du cytosquelette avec inhibition de l'invasion et du processus métastatique,¹²⁴⁻¹²⁶ c) il provoque l'apoptose dans les cellules endothéliales transformées par inhibition de la PKC (Protein Kinase C, enzyme jouant un rôle dans la division, croissance et prolifération cellulaire) conduisant à l'arrêt de la transcription du gène c-myc (gènes codant pour des facteurs de transcriptions activateurs de gène de prolifération pour les leucémies, cancers du sein, estomac et poumon) puis à l'activation de la caspase-3 (enzyme activant des molécules qui vont participer à la destruction cellulaire) et cause l'apoptose,^{127,128} d) il se lie au collagène de la matrice extracellulaire et exerce ainsi une activité antiangiogénique contribuant à des propriétés antimétastatiques.^{129,130} Sa faible capacité de se lier à l'ADN est peu probable pour tenir compte de l'activité antimétastatique.¹²⁹

Mis à part les composés de ruthénium(III) dans les essais cliniques, les complexes organométalliques de ruthénium(II) ont suscité un vif intérêt au cours de ces dernières années. L'idée de l'utilisation de complexes arène-ruthénium comme agents anticancéreux a été développée pour la première fois par Tocher *et al.* en 1992 en montrant que le caractère cytotoxique de l'agent anticancéreux [1-β-(hydroxyéthyl)-2-méthyl-5-nitro-imidazole] était plus importante lorsque ce dernier était coordonné au fragment dichlorobenzène ruthénium (Figure 54).¹³¹

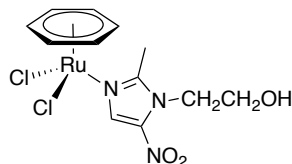


Figure 54 : Structure du complexe $[(\eta^6\text{-benzène})\text{Ru}(1\text{-}\beta\text{-(hydroxyéthyl)-2-méthyl-5-nitro-imidazole})\text{Cl}_2]$.

RAPTA

Par la suite, les groupes de recherche de Sadler et Dyson ont été les pionniers dans le domaine des complexes arène-ruthénium comme agents antitumoraux ou antimétastatiques. En 2001, Dyson *et al.* ont développé une série de complexes cytotoxiques du type $[(\eta^6\text{-arène})\text{Ru}(\text{pta})\text{X}_2]$ (pta = 1,3,5-triaza-7-phosphatricyclo-[3.3.1.1]décane) avec X : Cl, Br, I, SCN, RCOO.¹³²⁻¹³⁴ Ces composés sont regroupés sous le nom de complexes RAPTA pour *Ruthenium Arene PTA*. Les composés RAPTA sont donc caractérisés par un ligand monodentate pta et un ligand η^6 -arène liés au centre métallique (Figure 55).

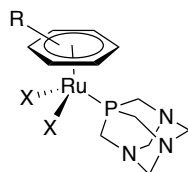


Figure 55 : Structure du composé RAPTA.

La structure des RAPTA ou des complexes organométalliques demi-sandwich arène-ruthénium(II) est décrite comme la forme d'un tabouret de piano (Figure 56).



Figure 56 : Structure générale des complexes demi-sandwich arène-ruthénium(II).

Le RAPTA est composé d'un ligand pta et de deux ligands labiles, souvent des chlorures. Le ligand phosphine pta hydrophile rend le complexe plus hydrosoluble, ce qui est important pour des applications thérapeutiques. Par comparaison avec d'autres types de ligand phosphine, le pta est relativement compact et stériquement peu encombrant avec un angle de 103° (PPh₃ 143°, PMe₃ 134°).¹³⁵ *In vitro*, les composés RAPTA ont montré qu'ils étaient faiblement toxiques envers les cellules cancéreuses et complètement non toxiques pour les cellules saines.¹³⁴ Comme le NAMI-A, *in vivo*, le RAPTA-T inhibe les métastases pulmonaires chez les souris portant le carcinome mammaire MCa avec seulement de légers effets sur les tumeurs primaires (Figure 57). Les récentes études comparatives des composés RAPTA montrent que le mécanisme biologique est moins bien compris que le NAMI-A. Les études sur l'interaction RAPTA-ADN ont montré que l'activité sur

l'ADN dépendait du pH de la cellule,¹³³ les cellules tumorales et saines n'ayant pas le même pH, et donc le mécanisme est centré sur l'activation par protonation. Le ligand pta est responsable de la sélectivité du médicament car à bas pH, il se protone, la forme protonée étant considérée comme la forme active du complexe. La réactivité des complexes RAPTA vis-à-vis des oligonucléotides a été étudiée par ESI-MS. Les résultats ont mis en évidence la fixation du fragment ruthénium-pta sur les bases azotées après perte des ligands chlorures et arène, cette fixation semble être favorisée par un pH acide.¹³⁶ Pour comparer, d'autres composés arène-ruthénium ne comportant pas de ligand pta ont été testés, certains ont montré une cytotoxicité *in vitro* comparable à celle du cisplatine donc il n'y a pas de sélectivité envers les métastases.¹³⁷

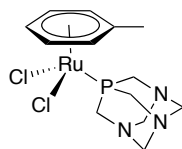


Figure 57 : Structure du RAPTA-T.

Les deux différents composés, le NAMI-A et le RAPTA-T, présentent un comportement antitumoral similaire, les deux étant inactifs envers les tumeurs primaires, mais actifs envers les tumeurs secondaires, les métastases. Ils présentent également de très mauvaises valeurs d'IC₅₀ dans les études cellulaires *in vitro*. De plus, il semble probable que les cibles protéiques soient plus importantes que l'ADN pour l'activité du NAMI-A et du RAPTA-T, mais des études approfondies sont nécessaires pour le prouver. Récemment, une étude *in vivo* sur un modèle de métastases pulmonaires a été réalisée. Lorsque le NAMI-A est co-administré avec le cisplatine, une activité supérieure est observée, 60% de tous les animaux ont été guéris, ce qui représente le traitement le plus réussi signalé pour une tumeur métastatique.¹³⁸ Des études par spectrométrie de masse ont été combinées et ont montré une interaction des deux médicaments avec les protéines plasmatiques.¹³⁸ Pour conclure, le NAMI-A et le RAPTA-T ne sont pas directement actifs mais pourraient interagir avec les protéines qui régulent l'apoptose.

Afin d'obtenir une action ciblée des complexes RAPTA au niveau des cellules tumorales, Dyson *et al.* ont développé des dérivés contenant une fonction aldéhyde sur le ligand arène, appelés RAPTA-FORM (Figure 58).¹³⁹ Ce dérivé est susceptible de se conjuguer à l'albumine du sérum humain (HSA), protéine qui s'accumule dans les tumeurs. Des premières analyses cytotoxiques ont été réalisées sur la lignée cellulaire A2780 (carcinome ovarien). Une valeur d'IC₅₀ de 11 µM a été obtenue pour le RAPTA-HSA tandis que pour la protéine HSA, elle est > 75 µM et 288 µM pour le RAPTA-FORM. Les résultats préliminaires indiquent que la stratégie est viable et que le HSA pourrait être exploité comme biomolécule pour le transport de médicaments à base de RAPTA *in vivo*.

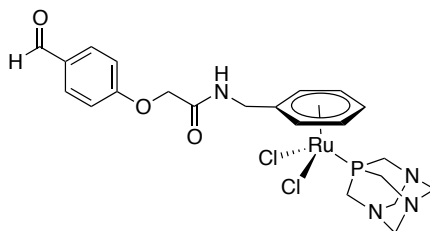


Figure 58 : Structure du RAPTA-FORM.

Complexes arène-ruthénium(II) avec des ligands chélatants N,N

Les complexes arène-Ru(II) du type $[(\eta^6\text{-arène})\text{Ru}(\text{N,N})\text{Cl}]^+$ développés par Sadler et al. ont également donné des résultats prometteurs (Figure 59).¹⁴⁰ Ils sont synthétisés par introduction de ligands diamines chélatants sur le dimère de ruthénium. L'activité des complexes augmente avec la taille de l'arène coordonné : benzène < *p*-cymène < bisphényl < dihydroanthracène < tétrahydroanthracène. Sur la lignée cellulaire A2780, le dérivé bisphényl présente une toxicité équivalente à celle du carboplatine ($\text{IC}_{50} = 6 \mu\text{M}$) et le dérivé tétrahydroanthracène est aussi actif que le cisplatine ($\text{IC}_{50} = 0,6 \mu\text{M}$).

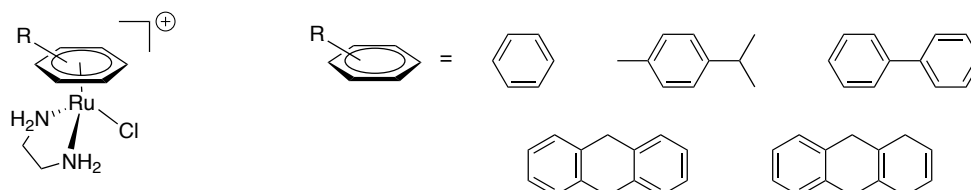


Figure 59 : Structure des complexes arène-Ru(II) du type $[(\eta^6\text{-arène})\text{Ru}(\text{N,N})\text{Cl}]^+$.

Sadler *et al.* ont établi que le mécanisme d'action de leurs composés $[(\eta^6\text{-arène})\text{Ru}(\text{N,N})\text{Cl}]^+$ était très analogue au cisplatine. Ils sont donc cytotoxiques envers les tumeurs primaires. Dans un premier temps, une hydrolyse de la liaison Ru-Cl du complexe a été constatée, ce qui génère une espèce active $[(\eta^6\text{-arène})\text{Ru}(\text{N,N})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$. Ainsi, ils supposent que le complexe aqua se lie à l'ADN avec une haute affinité et sélectivité sur la position N7 de la guanine, formant des adduits monofonctionnels. Ces résultats ont été déterminés par des études RMN et cristallographique X-ray et par des expériences de cartographie de transcription.¹⁴¹⁻¹⁴³ Les données préliminaires sur l'activité des différents composés ont donc montré que pour augmenter l'activité inhibitrice, il faut que le complexe soit constitué d'un ligand arène hydrophobe, d'un ligand échangeable et d'un ligand bidentate stable (chélateur). Ces propriétés, et plus particulièrement le groupe d'arène hydrophobe, peuvent également promouvoir la reconnaissance par la glycoprotéine P-gp. Ces complexes arène-Ru(II) chélatés ont donc un potentiel comme nouveaux agents anticancéreux avec un mécanisme d'action différent des complexes de Ru(III) actuellement en phase clinique.

À l'inverse, Sadler a montré que les composés du type $[(\eta^6\text{-arène})\text{Ru}(\text{X})(\text{Y})(\text{Z})]\text{PF}_6$ (X, Y, Z = halogène, acétonitrile ou isonicotinamide) avec trois ligands monodentates sont inactifs sur la lignée cellulaire A2780.¹⁴⁴ Les différents résultats soulignent la nécessité de la présence d'un ligand arène hydrophobe ainsi que d'un ligand bidentate chélatant (par exemple, l'éthylènediamine) pour obtenir un effet cytotoxique.¹⁴⁵

Le groupe de Pfeffer a également développé des complexes de ruthénium à base de polyamines mono- et bidentates, et à base de ligand bidentate de type phénylpyridine lié par une liaison C-Ru (Figure 60).¹⁴⁶ La plupart des dérivés à ligands phénanthroline et pyridine ont montré des valeurs d' IC_{50} de l'ordre de la micromolaire, voire nanomolaire.¹⁴⁷

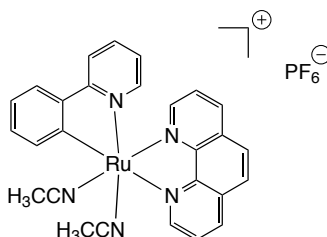


Figure 60 : Structure du complexe RDC11 développé par Pfeffer.¹⁴⁶

Les résultats ont montré que le complexe de ruthénium RDC11 est capable de réduire la taille des tumeurs *in vivo*.¹⁴⁸ Le mécanisme d'action des dérivés polypyridiniles est dû probablement à une intercalation forte et stable avec l'ADN mais également à des interactions avec de nombreuses cibles biologiques telles que le réticulum endoplasmique (siège de plusieurs métabolismes cellulaires).¹⁴⁸

IV.1.2 Les dérivés de l'osmium

Le succès du ruthénium comme une alternative aux traitements existants a favorisé la recherche avec d'autres métaux. Comme le ruthénium et le fer, l'osmium appartient également au groupe VIII du tableau périodique et doit donc être capable de mimer le fer et interagir avec des protéines, des acides nucléiques et des coenzymes. L'osmium est un métal plus lourd que le ruthénium. Comme dans le cas du ruthénium, les complexes d'osmium offrent aux chimistes médicaux une large gamme de réactivité étant donné que les états d'oxydation Os(II), Os(III) et Os(IV) sont tous accessibles sous les conditions physiologiques. Cependant, seulement quelques recherches sur ce métal comme agent anticancéreux ont été entreprises ces dernières années. Les composés d'osmium sont devenus un champ d'intérêts croissants et beaucoup d'études récentes ont été réalisées par Keppler *et al.*,¹⁴⁹⁻¹⁵³ Dyson *et al.*,¹⁵⁴⁻¹⁵⁷ et Sadler *et al.*¹⁵⁸⁻¹⁶⁹ Ils ont démontré que ces complexes peuvent afficher une activité antitumorale *in vitro*, ainsi qu'une réactivité avec l'ADN.¹³⁶ L'activité des complexes à base d'osmium a montré jusqu'ici des valeurs de d'IC₅₀ très variées : IC₅₀ > 1600 µM (non cytotoxique) à une gamme entre 1 et 10 µM (relativement cytotoxique). Dans cette partie, une comparaison avec les complexes de ruthénium déjà discutés sera établie.

Analogues du KP1019

La nouvelle famille de formule générale trans-[Os^{IV}Cl₄(azole)] où le ligand coordonné est un azole, comme le 2H-indazole, 1H-pyrazole, 1H-benzimidazole ou 1H-imidazole a été synthétisée (Figure 61). Dans le but d'explorer d'avantage la relation structure-activité des complexes d'osmium azole,^{150,151} Keppler *et al.* ont effectué en 2011 une étude comparative récente sur les analogues osmium du KP1019. Ils affichent une activité cytotoxique dans une gamme comparable à celle du KP1019 trans-[RuCl₄(DMSO)(Ind)₂]IndH actuellement en phase clinique.¹⁷⁰

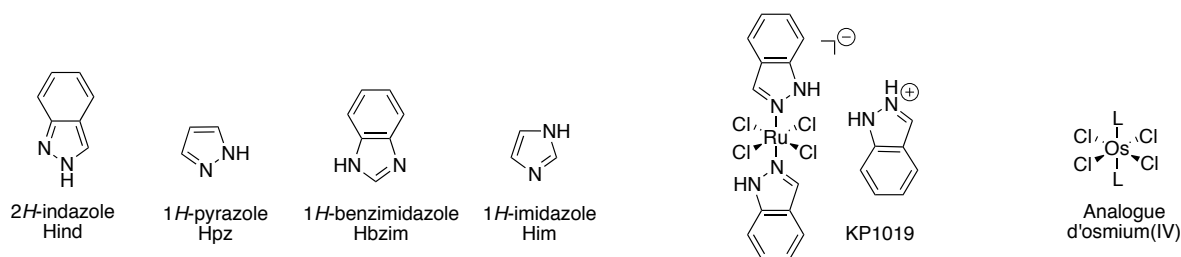


Figure 61 : Ligands d'azole utilisés pour construire les analogues osmium KP1019 et structures du KP1019 et de son analogue Os^{IV}.

La cytotoxicité de ces complexes a été évaluée dans trois lignées cellulaires cancéreuses humaines : CH1 (carcinome ovarien), A549 (carcinome pulmonaire) et SW480 (carcinome du côlon) (Tableau 3). Les valeurs d'IC₅₀ sont pour la plupart dans la gamme de 10⁻⁵ M dans la lignée cellulaire CH1 plutôt chimiosensible, mais surtout supérieur à 100 µM voire plus dans les lignées cellulaires A549 et SW480 moins chimiosensibles. Les meilleurs résultats ont été observés pour le complexe avec L = Hind qui affiche des effets antiprolifératifs sur deux lignées cellulaires dans une gamme comparable à celle du complexe de ruthénium KP1019 en test clinique.

Composés d'osmium de type KP1019	L	IC ₅₀ (μM)		
		A549	CHI	SW480
1	Hpz	> 160	115 ± 14	120 ± 5
2	Hind	181 ± 11	53 ± 4	41 ± 14
3	Him	> 640	46 ± 1	173 ± 9
4	Hbzim	> 160	36 ± 16	> 160
KP1019	Hind	-	44 ± 11	79 ± 5

Tableau 3 : Valeurs d'IC₅₀ des complexes d'osmium(IV) de type KP1019 et du KP1019 dans plusieurs lignées cellulaires après 96 h d'incubation.

Analogues du NAMI-A

En 2007, Keppler *et al.* ont réalisé une étude comparative sur les complexes de type NAMI-A ruthénium(III) et son analogue plus lourd osmium (Figure 62).^{171,172}

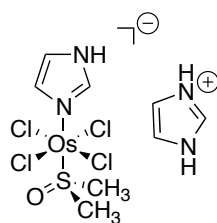


Figure 62 : Structure du complexe d'osmium NAMI-A.

Tous les complexes Os^{II}-DMSO-azole étudiés se sont avérés inactifs dans les lignées cellulaires humaines 41M (carcinome ovarien), SK-BR-3 (carcinome mammaire) et SW480 (carcinome du côlon) avec des valeurs d'IC₅₀ > 1000 μM. Cela peut être attribué à leur résistance à l'hydrolyse en analogie avec les complexes Os^{II}-arène, où l'activité semble être en corrélation avec leur vitesse d'hydrolyse. De plus, les complexes de type Os-NAMI-A sont cinétiquement stables en solution aqueuse, mais ils présentent tout de même une activité antiproliférative *in vitro* raisonnable, en comparaison avec les composés analogues Ru. En effet, lorsque le médicament antimétastatique trans-[RuCl₄(DMSO)(Im)]ImH (NAMI-A) affiche un IC₅₀ = 212 μM ± 22, l'IC₅₀ de son congénère est dix fois plus bas (IC₅₀ = 21 μM ± 1) dans la lignée cellulaire HT29 (carcinome du côlon). Bien que l'activité antimétastatique du NAMI-A *in vivo* a été attribuée à des espèces hydrolysées, les résultats sur les complexes de type Os-NAMI-A suggèrent que l'hydrolyse n'est pas du tout une condition essentielle pour l'activité antiproliférative *in vitro*. Cependant, l'hydrolyse semble jouer un rôle plus important dans l'activité de l'Os^{II} que dans les complexes Os^{III}.

Analogues osmium des complexes « tabouret de piano » ou semi-sandwich

En général, les complexes demi-sandwich de Ru(II) et Os(II) ont une structure similaire mais différent dans leur réaction d'hydrolyse. Elle est 100 fois plus lente pour l'osmium et une augmentation au niveau de l'acidité du complexe aqua a été constatée (pKa 1,5).¹⁶³⁻¹⁶⁹ Ainsi, les complexes d'osmium peuvent réagir plus lentement avec les nucléobases.

Analogues du RAPTA

Dyson *et al.* ont montré pour la première fois en 2005 une série d'agents anticancéreux à base de complexes *p*-cymène osmium(II) dichloré en présence du ligand pta.¹³⁶ Ce groupe de complexes

arène-osmium(II) de formule générale $[(\eta^6\text{-arène})\text{OsCl}_2(\text{pta})]$ est caractérisé par l'utilisation de différents dérivés π -arène tels que le benzène ou le *p*-cymène (Figure 63).

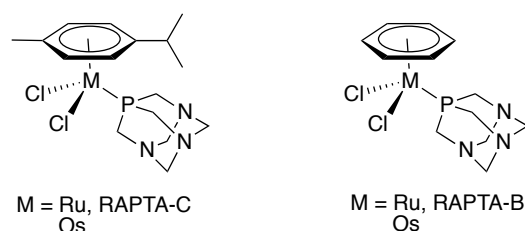


Figure 63 : Structures des complexes arène-ruthénium(II) et de leurs analogues osmium(II).

Seules quelques études ont été menées pour évaluer la cytotoxicité *in vitro* de ces composés. Le complexe $[(p\text{-cymène})\text{OsCl}_2(\text{pta})]$ a été évalué *in vitro* avec le composé antimétastatique $[(p\text{-cymène})\text{RuCl}_2(\text{pta})]$, connu sous le nom de RAPTA-C, dans les lignées cellulaires HT29 (carcinome du côlon), A549 (carcinome pulmonaire) et T47D (carcinome du sein) (Tableau 4).¹⁵⁵ Les deux congénères montrent des profils de cytotoxicité similaires dans la lignée cellulaire HT29.

Composés	Arène	X	Y	Z	IC ₅₀ (μM)		
					HT29	A549	T47D
RAPTA-C	<i>p</i> -cymène	Cl	Cl	pta	441	1105	1034
Analogue Os	<i>p</i> -cymène	Cl	Cl	pta	456	1430	> 1600

Tableau 4 : Valeurs d'IC₅₀ du RAPTA-C et de son analogue osmium.

Bien que ces données suggèrent que le développement de ces analogues ne doit pas être négligé, aucune continuité sur des études *in vitro* et *in vivo* n'a été encore effectuée. Structuellement, divers analogues osmium devraient être donc synthétisés et évalués afin de développer une bibliothèque chimique d'analogues RAPTA qui peut être attrayante pour leur potentiel thérapeutique.

Sadler *et al.* ont développé en 2007 un nouveau groupe d'arène-osmium(II) $[(\eta^6\text{-arène})\text{Os}(\text{X})(\text{Y})(\text{Z})]$ où X est un chlorure et Y,Z est un agent chélatant N,N.¹⁶¹ Ces complexes ont été testés *in vitro* dans les lignées cellulaires A549 (carcinome pulmonaire) et A2780 (cancer ovarien). Certains d'entre eux affichent une IC₅₀ \approx 6-10 μM, comparable au cisplatine. Une étude plus complète a été également entreprise récemment pour étudier la tumeur et la réduction des métastases *in vivo*, et les effets sur des essais d'invasion des complexes de ruthénium RM175 et osmium AFAP51 dans le modèle du cancer mammaire *in vitro* (Figure 64). La comparaison de l'activité antiproliférative des complexes montre que le comportement des deux complexes peut être très similaire à l'encontre de certaines cellules cancéreuses humaines, tout en étant complètement différent par rapport à d'autres cellules cancéreuses.^{161,162} Le complexe d'osmium AFAP51 est jusqu'à dix fois plus actif que le composé RM175 envers des cancers humains du sein hautement invasives. Cependant, RM175 est actif envers le carcinome mammaire MCa *in vivo* et engendre une réduction des métastases mais pas l'osmium AFAP51.¹⁶² Des études d'hydrolyse ont montré que l'AFAP51 s'hydrolyse plus lentement et donc réagit plus lentement envers l'ADN par rapport au RM175 bien qu'ils soient isostructuraux.¹⁶³⁻¹⁶⁵ Comme le complexe RM175, le dérivé de l'osmium est tout de même actif *in vitro* sur les cellules cancéreuses pulmonaires et ovariennes.¹⁶¹

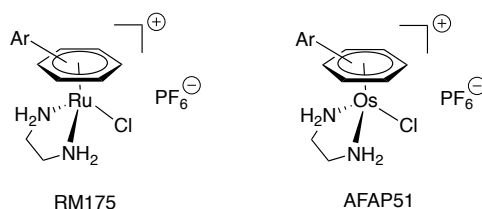


Figure 64 : Structures des complexes de ruthénium RM175 et osmium AFAP51.

En parallèle, Keppler *et al.* ont développé un nouveau groupe de complexes de paullone arène-ruthénium(II) pour leurs applications médicales.^{149,173,174} Cette équipe a également synthétisé de nouveaux complexes de paullone arène-osmium de type $[(\eta^6\text{-arène})\text{Os}(\text{X})(\text{Y})(\text{Z})]$ où X est un ligand monodentate comme un chlorure, Y, Z est un ligand chélatant de type paullone et π -arène est le *p*-cymène (Figure 65). La paullone est un inhibiteur des protéines kinases.

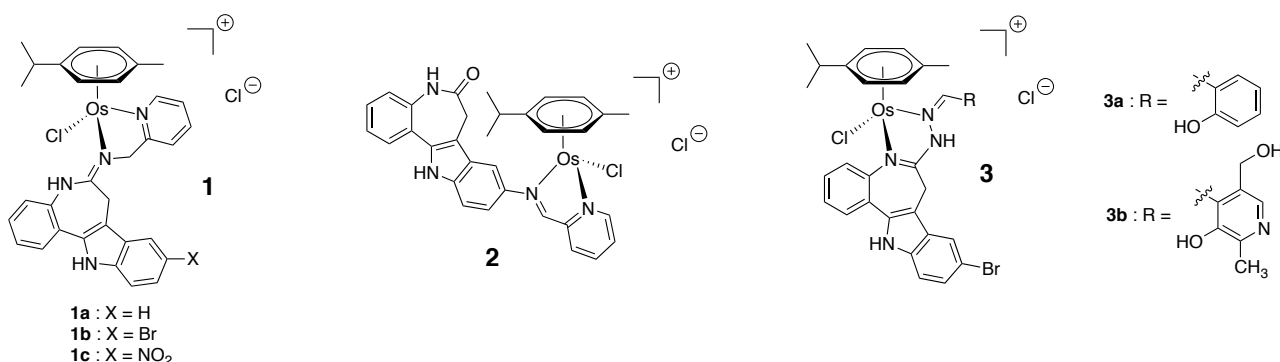


Figure 65 : Structures des complexes arène-osmium(II) avec certains types de paullones.

L'activité antiproliférative a été testée sur trois lignées cellulaires cancéreuses humaines (A549, CH1 et SW480) (Tableau 5). Comme pour les composés du ruthénium, les complexes de paullone avec une unité de lactame dérivé ont montré une activité antiproliférative plus élevée que les premiers complexes de paullone avec une unité du lactame non modifié. L'IC₅₀, se situant dans une gamme de faible concentration molaire, n'indique aucune amélioration significative par rapport à son congénère de ruthénium. Cependant, ces dérivés d'osmium restent des candidats potentiels.

Composés métal- paullone	IC ₅₀ (μM)		
	A549	CHI	SW480
1a (Os)	0,83 ± 0,19	0,19 ± 0,06	0,26 ± 0,03
1a (Ru)	6,0 ± 1,5	2,2 ± 0,6	2,1 ± 0,4
3a (Os)	2,2 ± 0,5	0,75 ± 0,07	8,2 ± 0,4
3a (Ru)	1,7 ± 0,1	0,53 ± 0,18	0,59 ± 0,19
3b (Os)	2,0 ± 0,2	0,63 ± 0,09	1,0 ± 0,1
3b (Ru)	2,5 ± 0,6	0,58 ± 0,08	1,0 ± 0,2

Tableau 5 : Valeurs d'IC₅₀ des complexes de paullone sur plusieurs lignées cellulaires après 96 h d'incubation.^{149,173,174}

Meggers *et al.* croient que le centre ruthénium a un rôle uniquement structurel et que c'est plutôt la forme du complexe organométallique qui est responsable de la bioactivité.¹⁷⁵ Afin de prouver cette hypothèse, Meggers *et al.* ont décidé de développer un analogue arène-osmium(II) contenant la staurosporine (Figure 66).¹⁷⁶ L'activité biologique de cette dernière est l'inhibition des protéines kinases dans la prévention de la liaison ATP-kinase, induisant ainsi l'apoptose. En remplaçant le ruthénium par de l'osmium dans le complexe DW12, inhibiteur de la kinase, le complexe

isostructural DW12-Os a été obtenu. Le remplacement du ruthénium par son congénère d'osmium plus lourd dans le complexe organométallique présente une activité biologique similaire. Des études approfondies ont révélé un effet apoptique par une forte activation de la p53, un suppresseur de protéine. Ainsi, Meggers *et al.* ont conclu que le rôle du métal dans les complexes DW12 et DW12-Os est uniquement structurel et que l'effet biologique de ces complexes est essentiellement dû à la forme rigide et inerte de ces complexe l'activité.¹⁷⁷

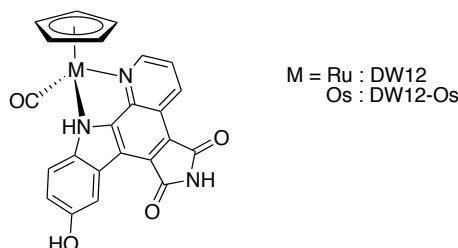


Figure 66 : Structure du complexe métallique contenant la staurosporine.

Perspectives pour les médicaments à base d'osmium pour le traitement du cancer

Comme dans le cas du ruthénium, la chimie médicinale inorganique à base d'osmium est un domaine d'intérêt en pleine croissance, étant donné que les composés à base de métaux sont également une alternative pour la conception d'agents thérapeutiques. Les analogues d'osmium présentent tous des propriétés anticancéreuses *in vitro* et dans certains cas, elles se sont avérées aussi efficaces que les médicaments utilisés actuellement tels que le cisplatine et le carboplatine.^{149,156,158-160,178} Cependant, il n'y a pas de relations structure-activité évidentes permettant de prédire les effets de changements du métal et il est encore difficile d'établir des règles pour les composés d'osmium particulièrement actifs. En effet, il a été observé par Sadler *et al.* que les complexes d'osmium peuvent être plus actifs que leurs congénères de ruthénium,¹⁵⁸ alors que dans d'autres cas, la modification du métal par son homologue plus lourd n'améliore pas significativement l'activité biologique.^{149,178}

La comparaison des complexes d'osmium avec leurs analogues ruthéniés peut fournir des informations utiles à la compréhension du mécanisme d'action des composés de ruthénium. Les complexes d'osmium, tout comme ceux du ruthénium, semblent impliquer de mécanismes red-ox.

IV.2 Les dérivés de l'or

Pendant de nombreuses décennies, les dérivés de l'or ont été utilisés en clinique dans le traitement de l'arthrite. Bien que très connus pour cette application clinique, les dérivés de l'or ont également montré des résultats prometteurs comme agents antitumoraux.^{179,180} Parmi les nombreux complexes d'or qui ont été étudiés pour leur potentiel antitumoral, les dérivés de l'or(I) phosphine ont montré une activité significative dans les modèles tumoraux murins *in vivo*. Dans nos travaux de recherche nous nous sommes attardés sur les complexes d'or(I) mais les dérivés de l'or (III) ont également montré des propriétés anticancéreuses intéressantes (Figure 68).^{181,182}

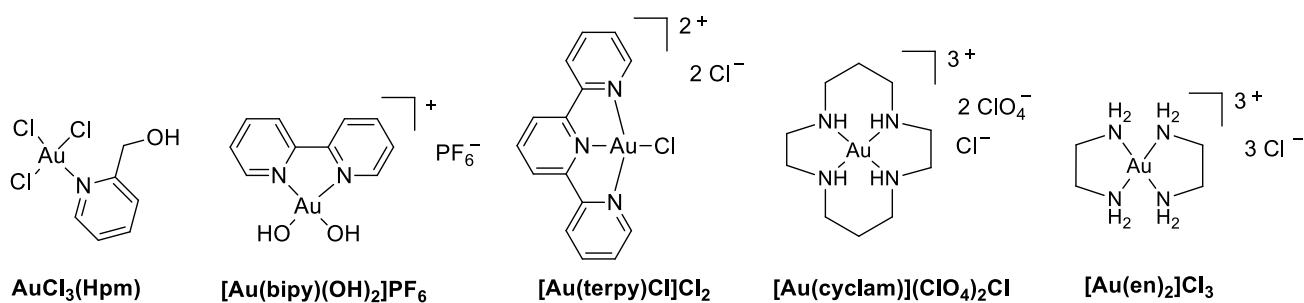


Figure 67 : Exemples de complexes d'Au(III).^{181,182}

Nous nous sommes focalisés sur les complexes d'or(I) à ligands phosphines mais d'autres à ligands carbéniques ont été étudiés dans la bibliographie pour leurs propriétés anticancéreuses (Figure 68).¹⁸³ La plupart des complexes Au(I)-NHC ont montré une activité cytotoxique supérieure à celle du cisplatine, avec certaines valeurs de l'ordre du nanomolaire.¹⁸⁴

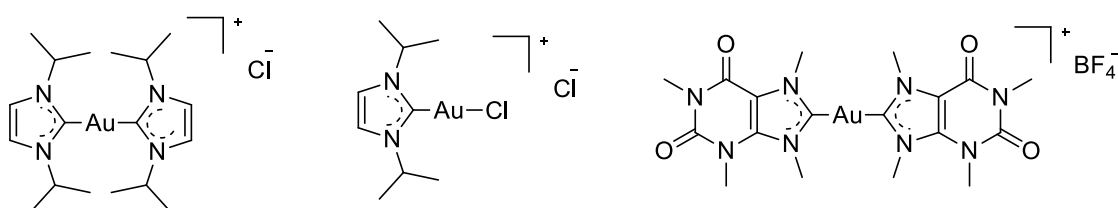


Figure 68 : Exemples de complexes Au(I)-NHC étudiés dans la bibliographie.^{184,185}

Les dérivés de l'or (I) phosphine peuvent être divisés en deux classes distinctes :

- complexes neutres, linéaires, avec deux sites de coordination comme le chlorure triéthylphosphine or(I) et le dérivé tétraacétylthiogluucose (Auranofin)
- complexes cationiques, tétraédriques avec des ligands diphosphine bis-chélatés comme le complexe $[\text{Au}(\text{dppe})_2]\text{Cl}$ (dppe = diphénylphosphinoéthane) (Figure 69).

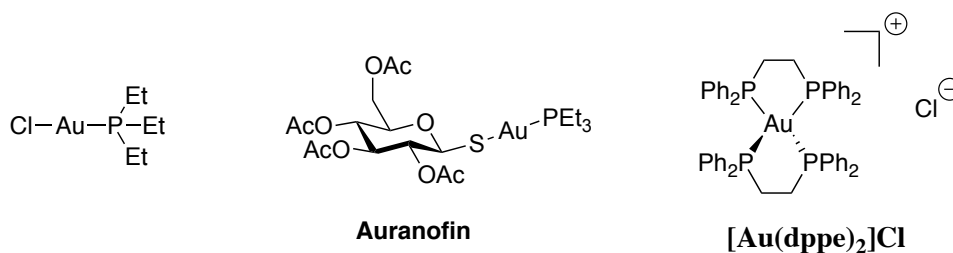


Figure 69 : Structure des complexes d'or(I) linéaire et tétraédrique.

Ces deux classes semblent viser des mitochondries (Figure 70), mais différents mécanismes sont susceptibles d'être impliqués, liés à leur disposition différente à subir des réactions d'échange de ligands avec des ligands biologiques. Les mitochondries jouent un rôle clé dans la régulation de l'apoptose (mort cellulaire) et dans les maladies caractérisées par des réponses apoptotiques anormales comme le cancer.

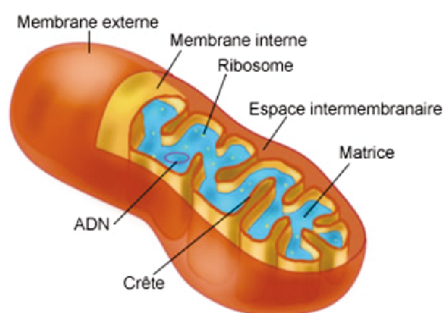


Figure 70 : Structure générale d'une mitochondrie.¹⁸⁶

Complexes d'or(I) avec une géométrie linéaire

L'Auranofin, agent antiarthritique à base d'or administré oralement, a émergé comme un médicament thérapeutique cliniquement efficace pour le traitement de la polyarthrite rhumatoïde à la fin des années 1970.¹⁸⁷ L'Auranofin est un complexe d'Au(I) monomérique linéaire stabilisé par les ligands triéthylphosphine et tétraacétylthioglucose. Les études ont montré qu'il inhibe la croissance des cellules tumorales *in vitro*.^{180,188,189} Il induit l'apoptose par un mécanisme impliquant l'inhibition de l'enzyme mitochondriale thiorédoxine réductase (TrxR) par création d'une liaison de l'Au(I) avec le groupement sélénocystéine de cet enzyme.^{190,191} Le résultat le plus important de cette inhibition est une altération notable de l'équilibre entre la production et l'élimination de l'eau oxygénée. Le taux de production de peroxyde d'hydrogène mitochondrial dépend non seulement de l'altération du flux d'électrons dans la chaîne respiratoire, mais aussi sur une élimination efficace de cet oxydant par les systèmes de la thiorédoxine. Par conséquent, après inhibition de la thiorédoxine réductase, une grande concentration de H_2O_2 s'accumule à l'intérieur des mitochondries.¹⁹² De même, la thiorédoxine réductase, inhibé par l'or(I), est incapable de réduire la thiorédoxine oxydée qui s'accumule en même temps que H_2O_2 . Les deux agissent alors sur plusieurs cibles intramitochondriales différentes menant à l'ouverture du pore de transition et/ou à une augmentation de la perméabilité de la membrane externe mitochondriale, provoquant ainsi une rupture de cette membrane externe (Figure 71).¹⁹³⁻¹⁹⁵ Certaines protéines, telles que le cytochrome c¹⁹⁴ (composant essentiel de la chaîne respiratoire) et l'AIF (facteur induisant l'apoptose), situées dans les espaces intermembranaires se répandent alors dans le cytosol et induisent l'apoptose.

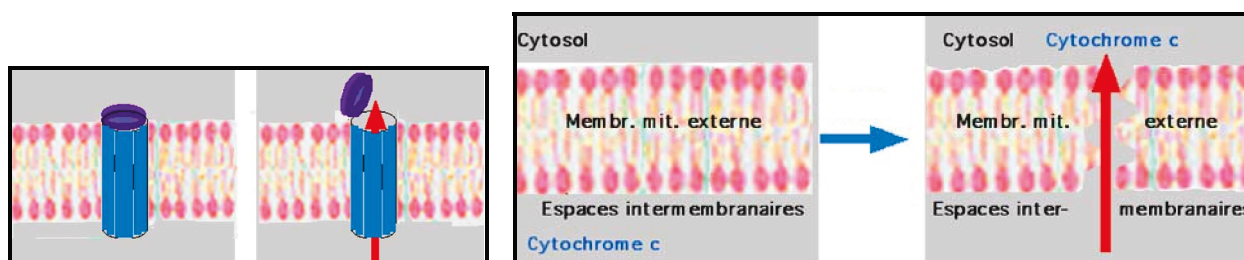


Figure 71 : Schéma d'une ouverture d'un pore dans la membrane externe (à gauche) et d'une déchirure de la membrane mitochondriale externe (à droite).¹⁹⁶

Le complexe chlorure triéthylphosphine or(I) Et_3PAuCl a été également étudié et a montré une activité cytotoxique *in vitro* potentielle mais son activité antitumorale *in vivo* est plus faible que le dérivé tétraacétylthioglucose étroitement lié, l'Auranofin.¹⁸⁸ Le remplacement de la partie thiosucre de l'Auranofin avec un ligand chlorure semble donc réduire la sélectivité du complexe métallique.

Complexes d'or(I) avec une géométrie tétraédrique

Dans un premier temps, le complexe $[\text{Au}(\text{dppe})_2]\text{Cl}$ a été testé. Il est cationique, il a une géométrie tétraédrique avec quatre sites de coordination et il contient des ligands diphosphine chélatés. Ce complexe est plus stable envers les réactions d'échange de ligands en milieu biologique que les complexes linéaires. Il y a donc une différence importante au niveau de la réactivité envers les thiols, $[\text{Au}(\text{dppe})_2]\text{Cl}$ est beaucoup moins réactif avec ces fonctions.¹⁸⁰ L'intégrité structurale de ce composé a donc permis d'explorer la relation entre l'activité biologique et le caractère lipophile. Des études de cytotoxicité *in vitro* effectuées sur un panel de lignées cellulaires cancéreuses ovariennes humaines ont montré une augmentation générale de l'activité en augmentant la lipophilie du composé.^{197,198} Les lipophiles cationiques peuvent passer facilement à travers la bicouche lipidique et leur charge positive dirige alors vers les mitochondries car la matrice mitochondriale porte une charge négative générée par la chaîne respiratoire.¹⁹⁹ Les lipophiles cationiques ont donc été étudiés comme une nouvelle approche de la chimiothérapie du cancer qui exploite leur accumulation sélective dans les mitochondries des cellules cancéreuses. $[\text{Au}(\text{dppe})_2]^+$ stimule alors la consommation d' O_2 et provoque la déplétion de l'ATP (baisse en énergie) sur des hépatocytes isolés (cellules du foie, elles sont chargées), la perturbation du potentiel électrochimique dans les mitochondries et un efflux de calcium (fuite des ions calciques).²⁰⁰ Toutes ces conséquences impliquent une ouverture du pore de transition membranaire de la mitochondrie. De même, il a été démontré que plus la concentration du cation $[\text{Au}(\text{dppe})_2]^+$ est augmentée plus la perméabilisation des membranes mitochondriales est constatée.²⁰¹ Ainsi, les deux phénomènes engendrent la libération du cytochrome c et de l'AIF induisant l'apoptose.

Bien que les premières études ont montré que le complexe $[\text{Au}(\text{dppe})_2]\text{Cl}$ avait une importante activité antitumorale *in vivo*, son développement clinique a été interrompu par la découverte d'une grave hépatotoxicité chez les chiens.^{200,202}

Les résultats de la haute lipophile $[\text{Au}(\text{dppe})_2]^+$ ont montré que ce composé n'est pas sélectif dans les mitochondries et provoque la perméabilisation générale de la membrane. Par conséquent, une approche plus récente a consisté à modifier les ligands diphosphine pour réduire le caractère lipophile et améliorer la sélectivité envers les cellules cancéreuses.¹⁹⁷ Les substituants phényles ont été remplacés par des groupements pyridyles, obtenant ainsi une structure similaire au complexe $[\text{Au}(\text{dppe})_2]\text{Cl}$. Le composé $[\text{Au}(\text{dpype})_2]\text{Cl}$ a été montré pour induire la perméabilisation des membranes dans les mitochondries isolées.²⁰³ Ces résultats suggèrent qu'il est possible d'affiner l'équilibre hydrophile-lipophile dans une zone optimale afin de cibler les mitochondries des cellules tumorales puisque ces cellules tumorales ont un gradient électrochimique des protons $\Delta\psi_m$ élevé par rapport aux cellules normales. Les protons générés dans la chaîne respiratoire sont expulsés à l'extérieur de la matrice mitochondriale au travers de la membrane interne. Le gradient électrochimique résultant de ce transfert assurerait l'énergie nécessaire à la synthèse de l'ATP.

V. BUT DU SUJET : LES THÉRANOSTIQUES APPLIQUÉS À L'ORGANOMÉTALLIQUE

V.1 État de l'art

Les complexes métalliques ont été à la pointe de la thérapie du cancer depuis des décennies. Actuellement, parmi les médicaments les plus utilisés quotidiennement en chimiothérapie, les dérivés du platine (cisplatine, oxaliplatine, carboplatine...) tiennent une place majeure ($\approx 70\%$). Leurs limitations sont leurs nombreux effets secondaires et le développement de résistance. Ce succès a donné naissance au domaine de la chimie bioinorganique qui a, ces dernières années, vu le développement d'une multitude de complexes métalliques destinés à la thérapie.^{57,58,204-208} Un assortiment de dérivés métalliques actuellement à l'étude s'est révélé actif et montre des résultats intéressants. En particulier, les complexes arène-ruthénium(II) introduits en grande partie par Sadler et Dyson ont montré une activité anticancéreuse remarquable.^{132-134,140} De même, les complexes d'or(I) tels que l'Auranofin s'est avéré un des plus prometteurs (Figure 72).^{179,180,188,189} Des travaux ont notamment montré que ces complexes organométalliques sont efficaces vis à vis d'un grand nombre de tumeurs incluant celles résistantes au cisplatine. Ils décrivent des mécanismes d'action plus ou moins différents des médicaments à base de platine.

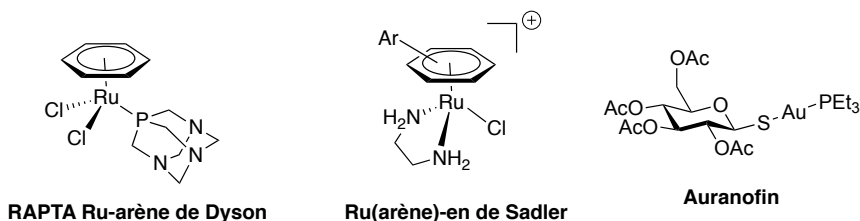


Figure 72 : Exemples de complexes à base de ruthénium et d'or connus pour leurs activités biologiques très prometteuses.

Au cours de ces cinq dernières années, un changement a eu lieu dans le domaine de la biométabolisme en mettant d'avantage l'accent sur la compréhension de la façon dont ces thérapeutiques agissent. De toute évidence, lors des études sur le mécanisme d'action, la quasi totalité de tous les composants cellulaires (protéines, ADN, ARN, mitochondries, etc) dans le corps entier doit être considérée. Ce niveau de complexité entrave sérieusement notre capacité à comprendre pleinement comment les complexes métalliques fonctionnent. Il entrave également nos efforts pour trouver de nouveaux voire de meilleurs médicaments à base de métaux.

L'imagerie optique s'est avérée être une stratégie efficace pour se faire une idée de ce qui se passe *in vitro*. Ainsi, il nous a paru judicieux de travailler sur des composés dérivés de ces molécules organométalliques couplés à un groupement imageable, le borodipyrométhène (BODIPY) ou la porphyrine, afin de pouvoir les localiser *in vitro* et *in vivo* (Figure 73). Les théranostiques ainsi obtenus posséderont, de fait, les aptitudes requises pour la thérapie et pour leur localisation. Cette localisation devrait permettre leur suivi, de déterminer leur(s) cible(s) biologique(s) et éventuellement leur devenir dans le corps du patient.

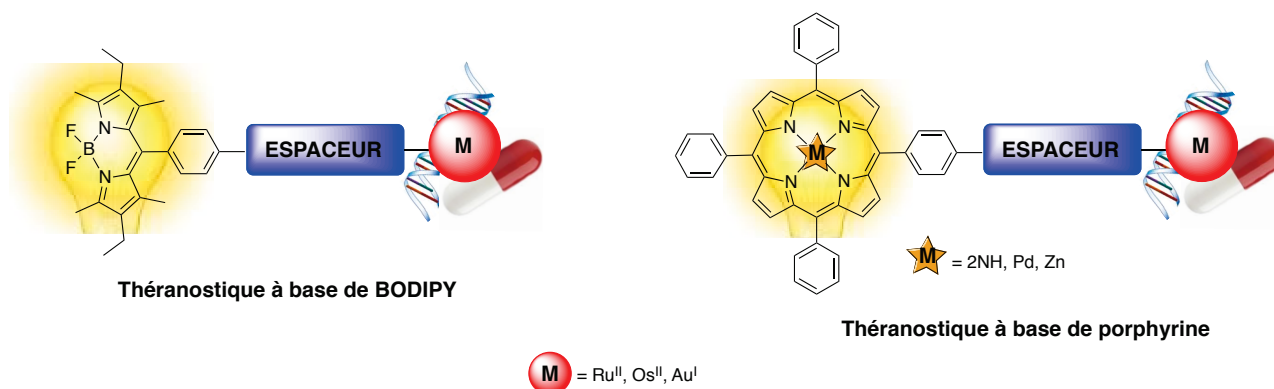


Figure 73 : Structure des théranostiques visés.

Des dérivés BODIPYs ou porphyriniques métallés utilisés comme sondes potentielles pour l'imagerie bimodale (optique/TEMP ou TEP pour les dérivés BODIPYS et TEP ou optique/IRM pour les dérivés porphyriniques) ont été récemment décrits.^{209,210} Dans ce cadre, la synthèse d'un nouveau ligand à base de BODIPY ou de porphyrine et son couplage à différents métaux (Ru^{II} , Os^{II} et Au^{I}) présentant des propriétés anticancéreuses a été développée. L'étude de ces nouveaux complexes est discutée en relation avec les applications possibles à la fois dans l'imagerie et les applications thérapeutiques, et, par conséquent, en tant que nouveaux agents théranostiques.

V.2 Exemples de la littérature

Peu d'études concernent le couplage d'un traceur pour l'imagerie à un agent thérapeutique organométallique. Il n'y a que très récemment que s'est développé un engouement particulier pour la conception de ce type de théranostiques. La majorité des exemples qui vont être décrits est d'ailleurs parue après que nous nous soyons lancé sur ce sujet.

V.2.1 Théranostiques optiques (hors BODIPY et porphyrine)

Casini *et al.* ont décrit en 2013 la synthèse de carbènes *N*-hétérocycliques (NHC) d'or(I) et d'argent(I) comprenant un ligand anthracène fluorescent (Figure 74).²¹¹ Leurs cytotoxicités ont été mesurées dans des lignées cellulaires du cancer de l'ovaire sensibles et résistantes au cisplatine (A2780S et A2780R respectivement) et une lignée dite non cancéreuse. Le complexe d'argent est plus sélectif envers les cellules cancéreuses. Les extraits cellulaires des deux complexes montrent une inhibition de la thioredoxin reductase (TrxR) plus importante dans les lignées cellulaires cancéreuses que les cellules « normales », le dérivé de l'argent(I) étant particulièrement affin pour la TrxR. Les expériences préliminaires de microscopie de fluorescence ont montré que les deux composés entrent plus facilement dans les cellules cancéreuses que normales. Ces résultats mettent en avant le mécanisme d'action de ces complexes NHC-métal et permettent d'identifier davantage les voies menant à des dommages mitochondriaux oxydatifs induits par ces composés.

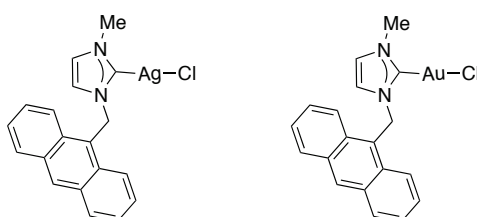


Figure 74 : Structures des complexes NHC-Ag(I) et NHC-Au(I).

Un système couplant un complexe de platine à un ligand pyridine substitué et de type $[\text{PtL}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}]\text{NO}_3$ a également été synthétisé par l'équipe de Guo (Figure 75).²¹² La fluorescence de ces composés a été étudiée et elle a montré que le complexe **A** est plus approprié pour l'imagerie cellulaire que le complexe **B**. L'absorption et la distribution cellulaire du complexe **A** dans les cellules cancéreuses cervicales humaines Hela ont été étudiées par microscopie confocale. Le complexe **A** entre lentement dans les cellules Hela, induit les vacuolisations cytoplasmiques et s'accumule dans le nucléole. La mort cellulaire est caractérisée par une vacuolisation massive. Ces résultats suggèrent que les complexes monofonctionnels de platine(II) peuvent stimuler les cellules tumorales pour qu'elles subissent un processus de mort non-apoptotique, bien distinct du mécanisme du cisplatine qui induit l'apoptose. Ces résultats montrent une approche intéressante pour vaincre la résistance de la tumeur associée au processus apoptotique.

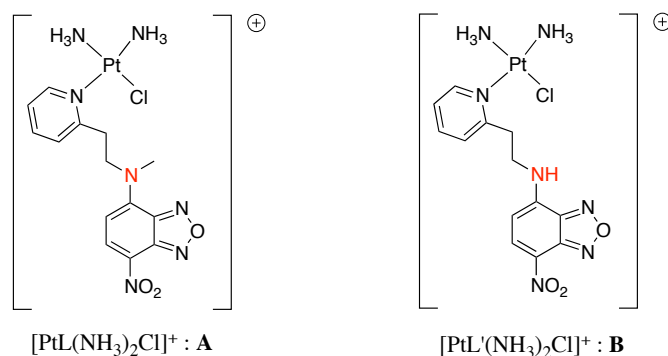


Figure 75 : Structures des complexes cationiques $[\text{PtL}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}]^+$ et $[\text{PtL}'(\text{NH}_3)_2\text{Cl}]^+$.

Sadler *et al.* ont synthétisé et caractérisé des complexes arène-ruthénium(II) fluorescents de type $[(\eta^6\text{-arène})\text{RuCl}(\text{Z})]$ (Z = ligand chélatant). Ils peuvent être marqués soit par une liaison ester soit par une liaison amide (Figure 76).²¹³ Ces composés ont montré des propriétés photoluminescentes et peuvent trouver quelques applications dans les études de microscopie de fluorescence dans le but d'élucider leur transport cellulaire et offrir ainsi de nouvelles perspectives sur le mécanisme d'action de cette nouvelle classe de composés anticancéreux. Les résultats ont montré une inhibition partielle de la fluorescence des ligands correspondants après coordination au centre métallique. Si le fluorophore est lié par une liaison ester, les composés résultants peuvent être des substrats pour des estérases cytosoliques (hydrolyse de l'ester dans le cytosol) et pourraient s'avérer utile dans la conception de systèmes de délivrance des médicaments à base de ruthénium estérase activé.

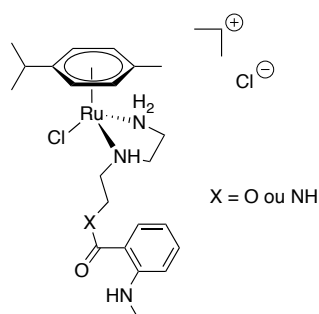


Figure 76 : Complexes développés par Sadler *et al.*²¹³

Dernièrement, la fonctionnalisation des complexes du dérivé RAPTA avec un fluorophore de type anthracène a été entreprise par l'équipe de Dyson (Figure 77).²¹⁴ Deux ligands différents (le ligand pta et un phosphite dérivé de sucre) ont été greffés sur le complexe de ruthénium fluorescent dans le but de déterminer le rôle de ces ligands dans l'absorption des complexes de ruthénium dans les cellules du carcinome du poumon A549. Après une excitation à 365 nm, une fluorescence intense

est observée dans le cas du complexe comprenant le dérivé du sucre et une fluorescence modérée a été détectée pour le complexe avec le ligand pta. Il semble que les deux complexes ne s'accumulent pas dans le noyau. De même, il n'y a pas d'influence du ligand phosphoré sur l'accumulation cellulaire, ce qui pourrait être liée à la lipophilicité des molécules.

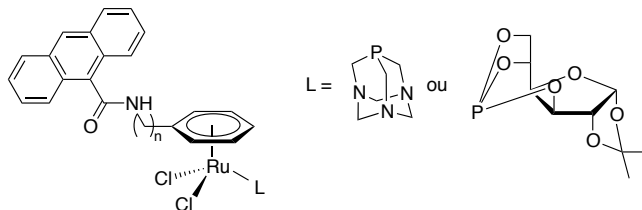


Figure 77 : Structures des dérivés du RAPTA fluorescents.²¹⁰

V.2.2 Système avec des BODIPYs

Au début de ce projet, il n'existait pas de systèmes théranostiques à base d'organométalliques mettant en jeu un fluorophore BODIPY. Le complexe BODIPY-métal décrit ci-dessous et paru peu de temps après la publication de nos travaux dans le domaine a pour but principal d'améliorer la sélectivité des cellules cancéreuses par irradiation et a donc plutôt un rôle de thérapeutique.

Afin de limiter les nombreux effets secondaires des médicaments actuels, une stratégie intéressante a été mise en place récemment en développant des médicaments métalliques.^{215,216} Le contrôle spatial et temporel sur l'irradiation rend les médicaments hautement sélectifs envers les tumeurs. Ce principe est proche de celui de la thérapie photodynamique (PDT).^{217,218} Il est même plus efficace que la PDT car cette dernière est dépendante de la présence de dioxygène alors que de nombreuses tumeurs malignes sont dans un environnement hypoxique.²¹⁹ En raison de leurs riches propriétés photophysiques et photochimiques,^{220,221} les complexes polypyridyles de ruthénium(II) font l'objet d'une recherche intensive pour des médicaments anticancéreux photoactivés.²²²⁻²²⁴

Wang *et al.* ont développé en 2013 un complexe arène-ruthénium(II) contenant un BODIPY de type $[(p\text{-cym})\text{Ru}(\text{bpy})(\text{py-BODIPY})]^{2+}$ et ont étudié leurs propriétés photochimiques (Figure 78).²²⁵ Sous irradiation sélective de la bande d'absorption du ligand py-BODIPY, la dissociation du ligand monodentate se produit efficacement, et se transforme en l'adduit complexe-guanine si la guanine est présente. Une telle stratégie de photosensibilisation indique qu'elle peut être réalisable et utilisée pour développer de nouveaux médicaments anticancéreux à base de métaux.

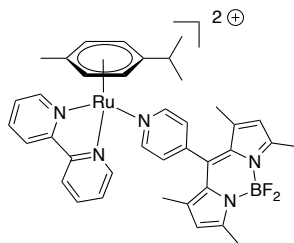


Figure 78 : Structure du complexe BODIPY-ruthénium.

V.2.3 Systèmes avec des porphyrines

Dans la littérature, lorsqu'une porphyrine est liée à un complexe organométallique, elle est plutôt utilisée comme photosensibilisateur pour la thérapie photodynamique (PDT) dans le traitement des cancers. Elle n'a jamais été utilisée comme agent d'imagerie seule dans ce type de complexe.

Récemment, des résultats encourageants ont été obtenus avec des complexes de porphyrine qui ont été coordonnés au platine afin de combiner la cytotoxicité du platine avec l'action photodynamique de la porphyrine.²²⁶⁻²²⁹ Par exemple, une liaison entre les composés du platine du type carboplatine et les systèmes de porphyrine a été créée (Figure 79).²³⁰ Les études ont montré que le complexe porphyrine-platine a une plus haute activité cytostatique que la combinaison du ligand porphyrinique et du complexe de platine correspondant. Sous irradiation, le ligand porphyrinique phototoxique augmente l'activité antitumorale du dérivé du platine.

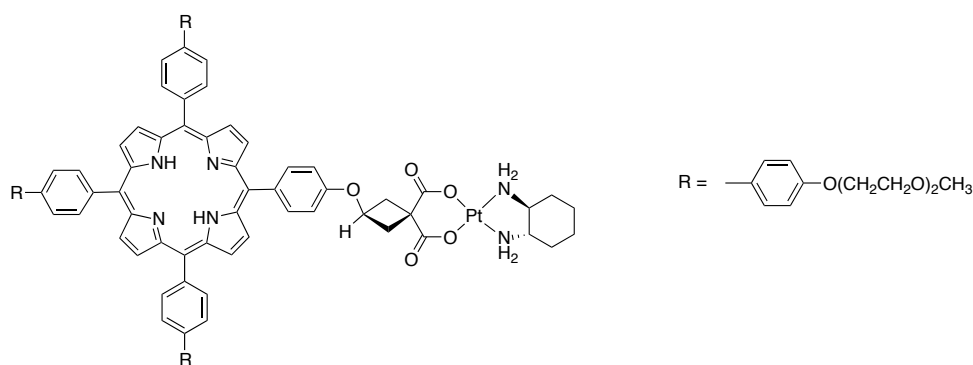


Figure 79 : Structure du complexe porphyrine-carboplatine.

Deux complexes de porphyrine-ruthénium(II) (contenant des ligands pyridyles ou phénantrolines) ont été également synthétisés dans le but d'évaluer leur activité antitumorale (Figure 80).²³¹ Cette étude a montré une haute activité inhibitrice des complexes de la croissance de la lignée cellulaire Hela (carcinome cervical humain) lorsqu'ils sont traités avec ou sans lumière. En absence de lumière, les activités inhibitrices des deux complexes dépendent de la concentration. À faible concentration, la meilleure activité inhibitrice a été obtenue en présence de lumière.

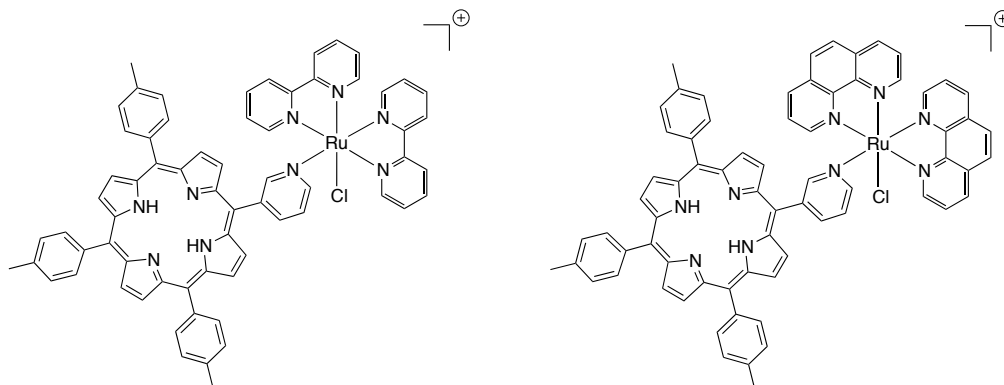


Figure 80 : Structure des complexes porphyrine-ruthénium(II).

Therrien *et al.* ont associé, en 2008, l'activité cytotoxique des complexes arène-ruthénium avec les propriétés photodynamiques des dérivés de la porphyrine (Figure 81).²³² Les complexes tétranucléaires $[(\text{arène})_4\text{Ru}_4(\text{tpp})\text{Cl}_8]$ (tpp = 5,10,15,20-tétra(4-pyridyl)porphyrine) obtenus se

comportent comme des agents chimiiothérapeutiques photosensibles car en absence de lumière, les complexes ne présentent pas d'activité cytotoxique vis à vis des cellules de mélanome. Cette activité peut être activée lorsque les complexes sont soumis à une faible irradiation laser à 652 nm. De plus, les études de microscopie de fluorescence ont montré que le complexe porphyrine-arène ruthénium(II) s'accumule préférentiellement dans le cytoplasme cellulaire mais pas dans les lysosomes ou les noyaux, ce qui contraste des médicaments à base de Ru(III) connus pour s'accumuler dans les noyaux.²³³

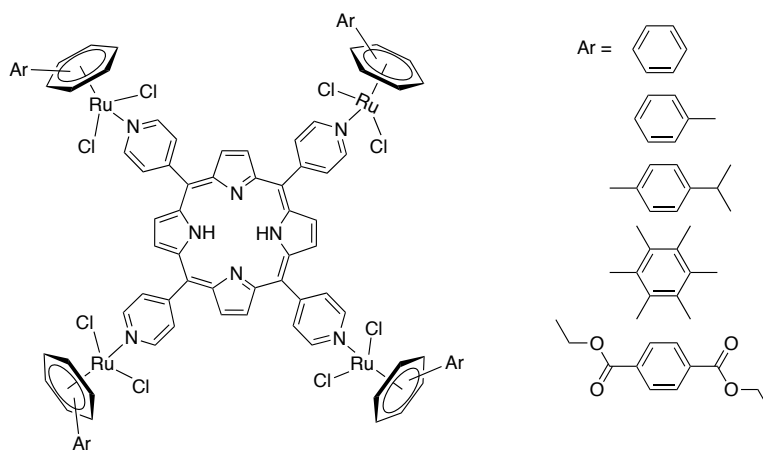


Figure 81 : Structure du complexe tétranucléaire porphyrine-arène ruthénium(II).

CHAPITRE N°2 :

**SYNTHÈSES DE NOUVEAUX THÉRANOSTIQUES À
BASE DE BODIPYS**

I. INTRODUCTION

I.1 État de l'art

Comme nous venons de le voir, les complexes organométalliques sont très utilisés comme agents anticancéreux. Leur mode d'action est pour encore méconnu et il est donc d'intérêt de pouvoir « accrocher » une sonde sur ces complexes pour les localiser *in vitro* et/ou *in vivo*.

Nous proposons ici de synthétiser de nouveaux théranostiques à partir de complexes de ruthénium, osmium et or. Les molécules cibles représentées Figure 82 porte un fluorophore BODIPY qui constitue la sonde. Ce fluorophore est lié au centre métallique par une phosphine, ligand usuel en chimie organométallique. À notre connaissance, lorsque nous avons débuté ce projet, aucune phosphine-BODIPY n'avait été décrite. Les phosphines ont été, en effet, largement étudiées pour leur chimie de coordination et sont connues pour leur liaison forte avec les ions métalliques. Les phosphines ne sont, cependant, pas utilisées dans le marquage des complexes métalliques à des fins d'imagerie, peut-être en raison de leur sensibilité à l'oxygène. Pour surmonter ce problème, un résidu triarylphosphine, moins sensible, a été choisi. Ce dernier a été couplé au fluorophore BODIPY pour former un ligand fortement fluorescent.

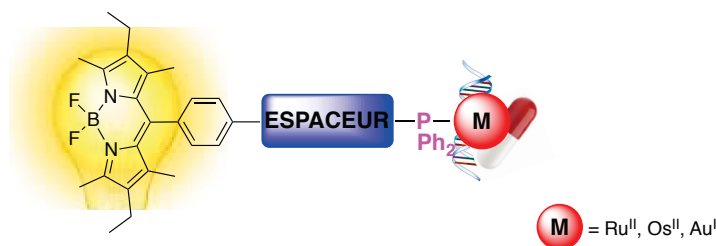


Figure 82 : Structure du système BODIPY-métal visée pour une utilisation comme agent théranostique.

Avant de présenter nos travaux, nous présenterons des généralités sur les BODIPYs, leurs domaines d'applications et leurs propriétés optiques. La partie BODIPY de ce chapitre a été réalisée en collaboration avec le groupe du Pr. Franck DENAT et Dr. Christine GOZE.

I.2 Généralités sur les BODIPYs

BODIPY® est une marque déposée par la firme Molecular Probes.²³⁴ Ce nom générique représente une famille de molécules, formellement les 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacènes ou BOroDIPYrométhènes (Figure 83).

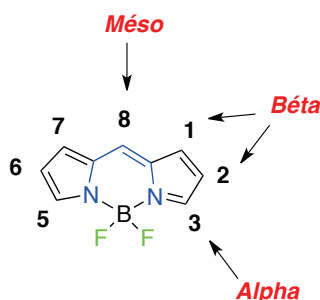


Figure 83 : Formule générale d'un BODIPY.

Ces composés font partie de la famille des cyanines, et plus précisément des cyanines monométhine (représenté en bleu sur la Figure 83). La première synthèse d'un BODIPY a été réalisée en 1968 par Treibs et Kreuzer.²³⁵ Les BODIPYs possèdent des propriétés photophysiques similaires à la famille de cyanines, à savoir des coefficients d'extinction molaire élevés de l'ordre de 3.10^3 à $8.10^3 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ et l'allure des spectres d'absorption et d'émission. Néanmoins, les BODIPYs sont beaucoup moins flexibles que leurs analogues car le squelette cyanine est bloqué par un fragment BF_2 , ce qui leur confère des rendements quantiques plus élevés (0,6 - 1,0). De plus, ces composés sont remarquablement stables chimiquement et photochimiquement, solubles dans une grande variété de solvants, et leurs potentiels rédox accessibles en font de bons candidats pour la formation de systèmes basés sur le transfert d'électrons ou d'énergie. Finalement, leurs propriétés optiques (absorption ou émission) sont modifiables à souhait en fonction de la nature des substituants présents en position *meso* ou en positions pyrroliques (Figure 84).^{236,237}

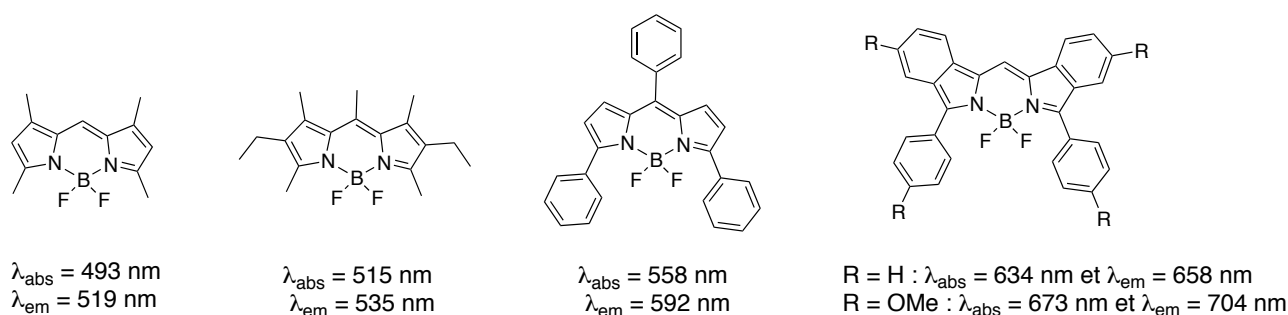


Figure 84 : Modification des longueurs d'onde d'absorption et d'émission en fonction du substituant.

À l'identique des porphyrines, de nombreux systèmes ont été préparés par fonctionnalisation de la position *meso*. Cette approche reste la plus classique et la plus rapide pour ajouter une fonctionnalité. En parallèle, la possibilité de lier différents groupes fonctionnels par liaison covalente sur les unités pyrroles en positions β et α pyrroliques explique l'augmentation significative du nombre de molécules disponibles aujourd'hui.

I.3 Domaines d'applications

Les propriétés photophysiques des BODIPYs étant aisément modulables, de multiples applications se sont développées. Aujourd'hui, ils sont principalement utilisés pour la détection de divers analytes et dans le domaine du marquage biologique.²⁴⁴⁻²⁶⁰ Les BODIPYs interviennent également des applications comme dopants dans les cristaux liquides,²³⁸ ou comme constituants dans les dispositifs optoélectroniques.²³⁹

I.3.1 Pour des nouveaux matériaux

Les propriétés optiques et électroniques des BODIPYs expliquent l'intérêt qu'ils suscitent pour de nombreuses utilisations : pour des interrupteurs moléculaires,²⁴⁰ pour des colorants dans les lasers,^{241,242} dans des diodes électroluminescentes organiques (OLED),²⁴³ dans des cellules photovoltaïques,²⁴⁴ ou pour des constituants de dispositifs optoélectroniques.^{245,246}

Lindsey *et al.* ont synthétisé un dispositif optoélectronique comprenant un BODIPY (Figure 85).²⁴⁷ Dans cet interrupteur moléculaire, le BODIPY (donneur d'énergie) est excité et un transfert

d'énergie a lieu vers la porphyrine de zinc puis vers la porphyrine base libre (BL). Si la porphyrine de magnésium est à l'état neutre, c'est la base libre qui fluoresce (signal ON). Si la porphyrine de magnésium est à l'état oxydé, il y a un transfert d'énergie supplémentaire vers le radical cation qui ne réémet pas de lumière (signal OFF). La porphyrine de magnésium est donc l'interrupteur rédox dans ce système.

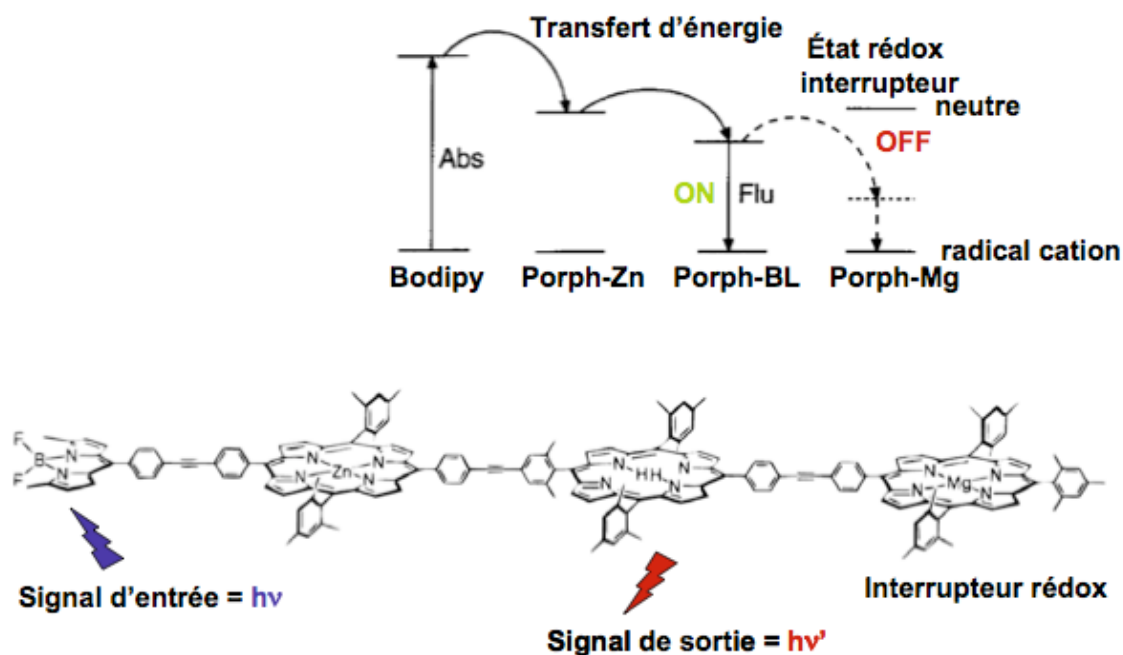


Figure 85 : Interrupteur moléculaire obtenu par le groupe de Lindsey.²⁴⁷

I.3.2 Détection d'analytes

Étant donné le rôle prédominant que jouent les anions et cations dans de nombreux phénomènes chimiques et biologiques et au niveau environnemental (détection de polluants dans l'eau), la détection efficace et sélective de ces espèces est un défi pour nombre de chercheurs, qui ont concentré leurs efforts vers la synthèse de récepteurs spécifiques à un type d'ion.

Les propriétés de luminescence des BODIPYs permettent leur utilisation comme sondes pour la détection d'espèces ioniques par un changement d'intensité de fluorescence : systèmes ON-OFF (Figure 83). En présence d'un analyte, si la complexation de l'ion inhibe un phénomène TEP préexistant (Transfert d'électrons photoinduits), la fluorescence est restaurée (détection « OFF-ON »), et si la complexation induit un phénomène de TEP, la fluorescence est piégée (détection « ON-OFF »). Les BODIPYs interviennent dans la détection d'anions,²⁴⁸ de protons^{249,250} et plus particulièrement de cations métalliques.²⁵¹⁻²⁵³

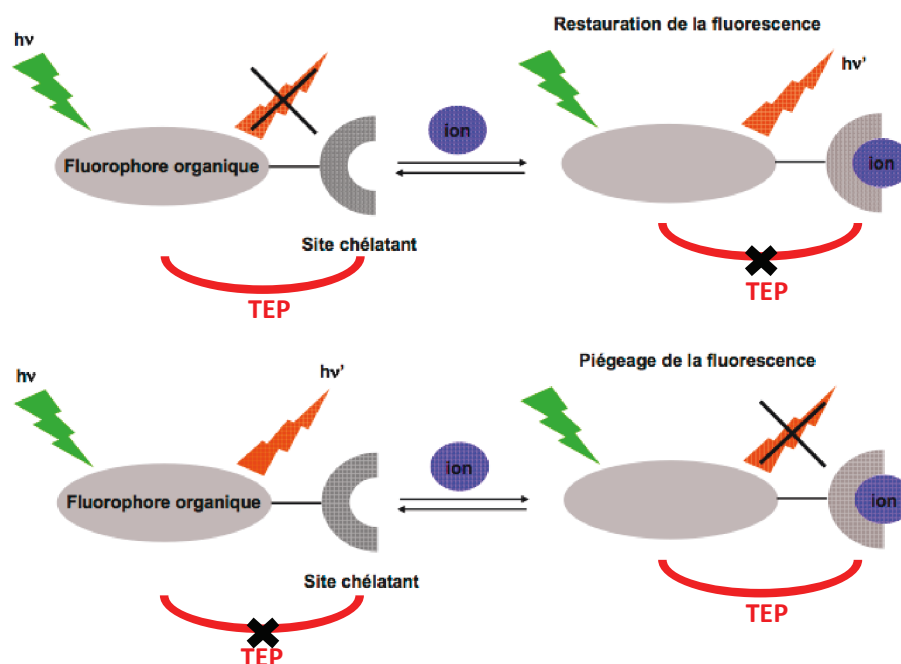


Figure 86 : Modulation de la fluorescence en présence de l'analyte.

De nombreux travaux ont démontré l'efficacité de BODIPYs fluoroionophores en matière de détection de cations : Pb^{2+} , Cu^{2+} et Fe^{3+} (Figure 87).²⁵⁴ Dans ces systèmes, l'azote des groupes chélatants joue le rôle de donneur d'électrons. Lorsque cet azote est impliqué dans la chélation du cation, le TEP est inhibé et la fluorescence est restaurée (système « OFF-ON ») (Figure 88).

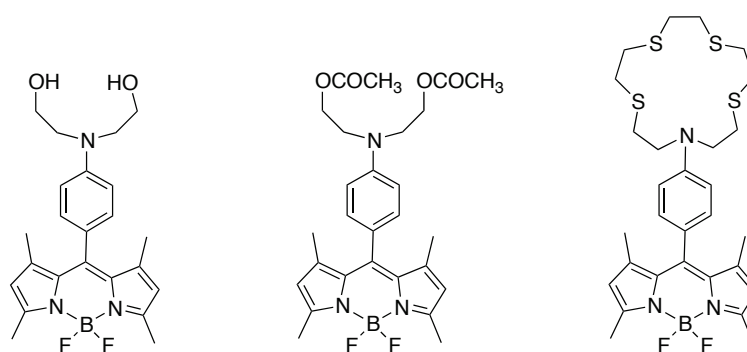


Figure 87 : Exemple de capteurs de cations Pb^{2+} , Cu^{2+} et Fe^{3+} respectivement.

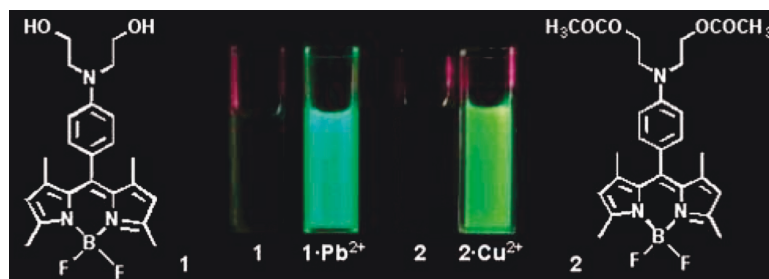


Figure 88 : Images des systèmes de BODIPY sélectifs vis-à-vis du Pb^{2+} et Cu^{2+} .²⁵³

Kim *et al.* ont développé un système BODIPY-calix[4]arène et ont montré que lors de la formation du complexe calix[4]arène-cation (Ca^{2+}), le TEP a lieu dans le sens BODIPY→complexe.²⁵⁵ Le système est donc inversé par rapport aux précédents : il fluoresce en absence de métal et s'éteint en présence de métal. Tous ces exemples utilisent la position *méso* comme site de fixation du groupe

chélatant. Cependant, d'autres groupes comme Akkaya *et al.* ou Qian *et al.* ont développé des capteurs positionnés sur des groupes styriliques.^{256,257}

I.3.3 Marquage biologique

Les BODIPYs trouvent une grande variété d'applications dans le domaine du marquage biologique. Ils sont utilisés pour le marquage des protéines (élucidation de structures,²⁵⁸ mode de repliement,²⁵⁹ distances²⁶⁰), de membranes cellulaires lipidiques,²⁶¹ pour le séquençage de l'ADN,²⁶² ou pour la visualisation de cellules cancéreuses.²⁶³

L'équipe de Sugawara *et al.* a, par exemple, réussi à marquer des acides gras avec trois BODIPYs substitués de manière à obtenir trois longueurs d'onde d'émission différentes.²⁶⁴ Des vésicules d'acide oléique contenant chacune de ces trois sondes fluorescentes lipophiles ont ensuite été photographiées (Figure 89). Les BODIPYs sont localisés à l'intérieur des bicouches membranaires lipidiques, permettant ainsi de visualiser directement la dynamique de la membrane par microscopie de fluorescence. De plus, chaque vésicule se distingue des deux autres, permettant une extension future à l'étude de la dynamique des membranes cellulaires et des fonctions biologiques dans les cellules vivantes.

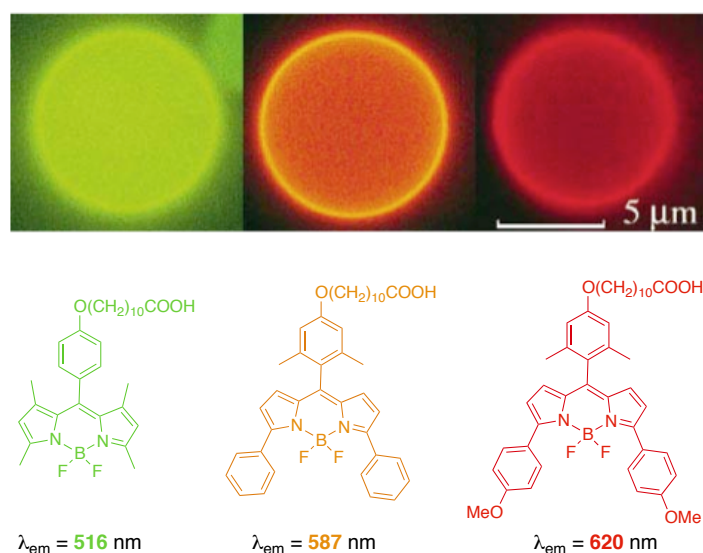


Figure 89 : Vésicules marquées par trois BODIPYs lipophiles et visualisées par microscopie de fluorescence.²⁶⁴

L'utilisation des BODIPYs en tant que marqueurs biologiques pour des applications *in vivo* nécessite une optimisation de leurs propriétés photophysiques, en développant notamment des systèmes émettant dans le proche IR. De nombreux efforts ont été effectués par les chercheurs pour obtenir des systèmes performants répondant à ce critère.

I.4 Optimisation des propriétés photophysiques : BODIPYs émettant dans le proche IR

Le développement de nouvelles structures à base de BODIPYs a permis d'obtenir une modulation contrôlée des propriétés photophysiques du fluorophore. Ces propriétés incluent le rendement quantique mais également les domaines d'absorption et d'émission. Le but de ce paragraphe est de démontrer que les BODIPYs sont particulièrement adaptés pour le marquage biologique et plus particulièrement pour la conception de systèmes théranostiques. En effet, la recherche actuelle est centrée sur la conception de systèmes fluorescents émettant dans le proche IR. Cependant, il reste très difficile d'élaborer pour ce domaine des sondes fluorescentes idéales qui conserveraient un rendement quantique élevé et une haute stabilité photophysique. La fonctionnalisation en position α et β pyrrolique du BODIPY a permis de moduler l'émission allant du visible au proche IR.

Une méthode de fonctionnalisation, initiée par Akkaya^{265,266} et Daub^{267,268}, consiste à condenser un aldéhyde aromatique sur les dérivés du 2,4-diméthylboroindacène pour obtenir un BODIPY styryle (Figure 90). Le système π étendu par des groupes aryles styryles aromatiques sur les positions α et β pyrroliques modifie les propriétés photophysiques de manière très importante. Les produits de mono et disubstitution voient leurs maxima d'absorption et d'émission fortement décalés vers le rouge. Les 3^{ème} et 4^{ème} condensations ne décalent que de très peu ces maxima par rapport à la condensation précédente. Concernant les rendements quantiques, une baisse conséquente de sa valeur est obtenue de façon générale. Cependant, les caractéristiques des propriétés d'absorption sont conservées (coefficients d'absorption importants $\approx 80.10^3$ à $1.10^5 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$).²⁶⁹

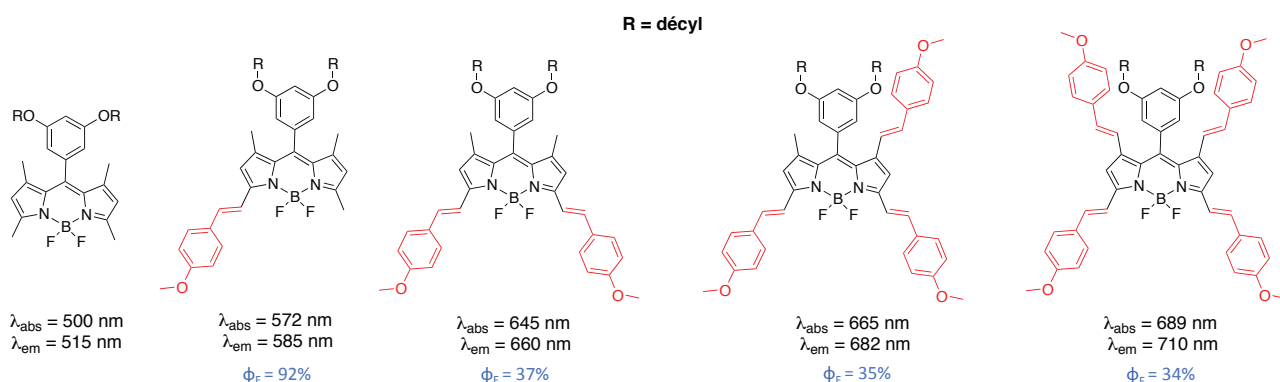


Figure 90 : Influence des multiples condensations sur les propriétés photophysiques.

Les systèmes π étendus et rigides sur les dérivés de pyrroles permettent également d'augmenter les maxima d'absorption et d'émission dus à l'augmentation de la conjugaison du noyau. Les équipes de Wada *et al.*²⁷⁰ et Descalzo *et al.*²⁷¹ ont développé ce type de synthèse sur les dérivés pyrroliques (Figure 91).

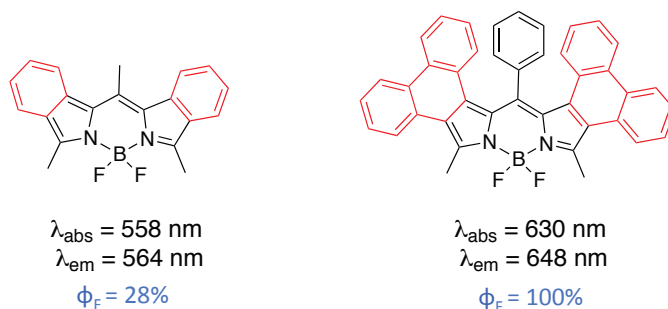


Figure 91 : Propriétés photophysiques des BODIPYs aromatiques étendus synthétisés par Wada *et al.*²⁷⁰ (à gauche) et Descalzo *et al.*²⁷¹ (à droite).

Dans ce contexte, la synthèse des aza-BODIPYs développée par les équipes de O'Shea²⁷²⁻²⁷⁴ et de Carreira²⁷⁵ est également remarquable. Ces complexes présentent des longueurs d'onde d'émission s'étalant de 650 à 750 nm et une excellente stabilité comparée à d'autres fluorophores organiques qui émettent dans le domaine du proche IR (Figure 92).

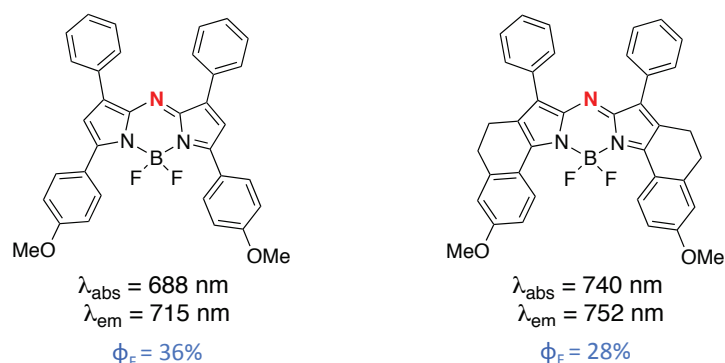


Figure 92 : Famille des aza-BODIPYs et ses propriétés d'absorption et d'émission.

Les propriétés photophysiques et chimiques aisément modulables par modification contrôlée du cœur BODIPY font de ces fluorophores d'excellents candidats pour des applications en imagerie optique. Dans ce travail de thèse, nous avons voulu coupler la chimie des complexes organométalliques à celle des BODIPYs afin d'accéder à nouveaux théranostiques.

II. SYNTHÈSES DE SYSTÈMES BODIPY-MÉTAL

La stratégie de synthèse envisagée se décompose en trois étapes majeures (Figure 93) :

- Synthèse du synthon BODIPY de base
- Introduction de l'entité phosphine
- Complexation du métal d'intérêt

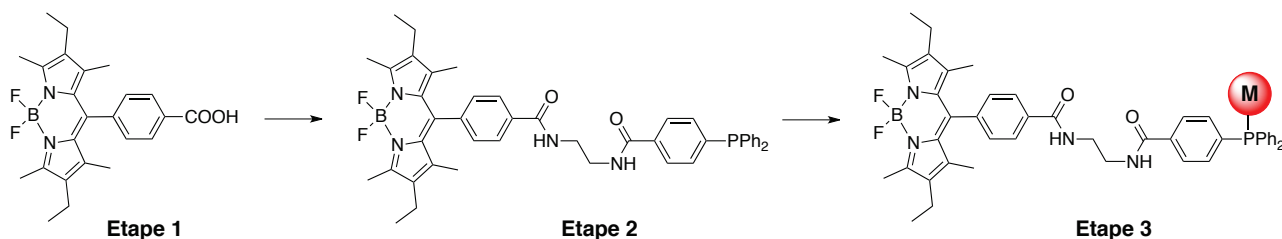


Figure 93 : Stratégie de synthèse du complexe BODIPY-métal.

II.1 Synthèse du synthon BODIPY

Les BODIPYs peuvent résulter de la condensation de deux molécules de pyrrole avec une fonction aldéhyde ou avec une fonction dérivée d'un acide carboxylique : chlorure d'acyle ou anhydride d'acide. Ces deux voies impliquent des étapes réactionnelles légèrement différentes. Ils peuvent également être obtenus par l'autocondensation de deux pyrroles carboxaldéhydes. Ces trois méthodes de synthèse sont présentées brièvement ci-après.

II.1.1 Synthèse à partir d'une fonction aldéhyde

Cette voie de synthèse « one-pot » est la plus décrite dans la littérature. Elle se décompose en quatre étapes successives (Figure 94). Elle est analogue à celle employée pour les porphyrines par la méthode de Lindsey et *al.*²⁶⁻²⁸

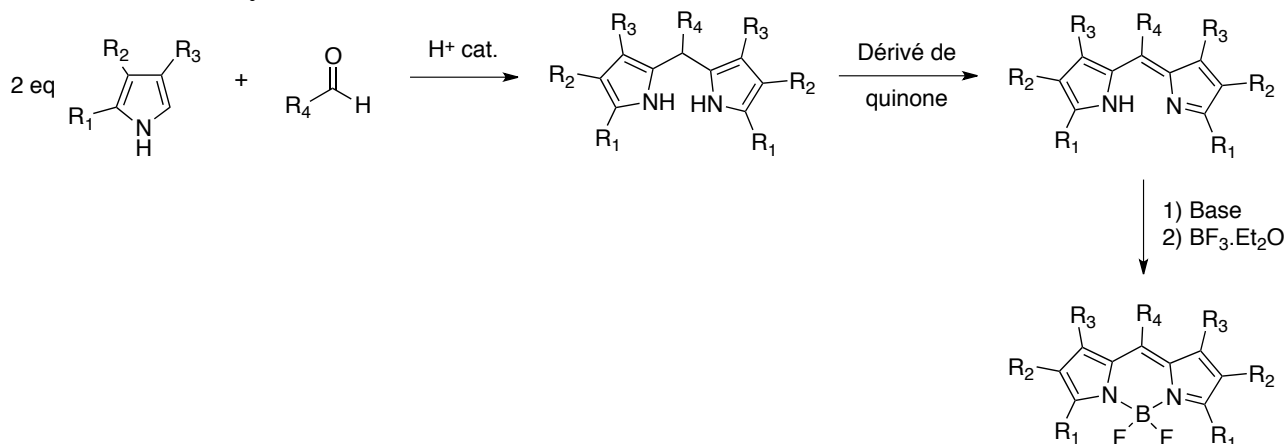


Figure 94 : Synthèse de BODIPY à partir d'aldéhydes.

La condensation de deux équivalents de pyrrole sur un équivalent d'aldéhyde, en présence d'une quantité catalytique d'acide, permet la préparation de l'intermédiaire dipyrrométhane. Ce dernier subit directement une étape d'oxydation par un dérivé de quinones, le DDQ (2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone), pour donner le dipyrrométhène correspondant. Les deux dernières étapes consistent à déprotoner l'un des pyrroles par une base (NEt₃ ou DIPEA) puis à introduire le motif « BF₂ » par ajout de BF₃.Et₂O.

II.1.2 Synthèse à partir d'un dérivé acide carboxylique

La synthèse débute par une réaction entre deux équivalents de pyrrole et un équivalent d'acide carboxylique, de chlorure d'acyle^{236,276,277} ou d'anhydride d'acide.^{278,279} Cette réaction conduit directement à la formation du chlorhydrate de dipyrrométhène qui en général n'est pas isolé. Les deux dernières étapes sont identiques à la précédente voie de synthèse (Figure 95).

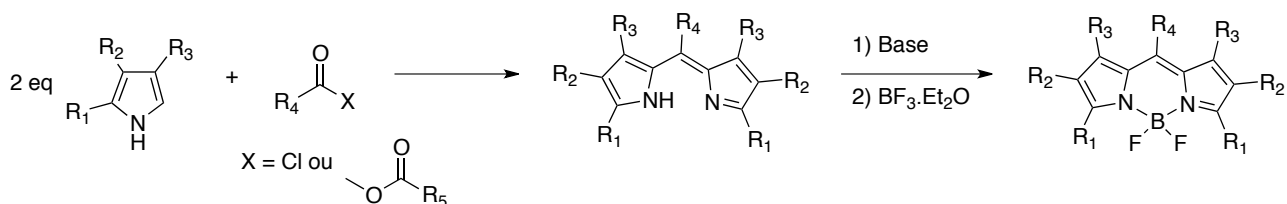


Figure 95 : Synthèse de BODIPY à partir de dérivés acides.

L'un des inconvénients majeurs de cette voie de synthèse réside dans la grande réactivité du dérivé d'acide. La présence de fonctions nucléophiles sur le pyrrole est donc à proscrire. Dans la littérature, peu d'exemples de synthèses de BODIPY par cette voie sont décrits. L'instabilité des anhydrides d'acide et des chlorures d'acyle est peu être une autre explication de ce faible succès.

II.1.3 Synthèse par auto-condensation du 2-formylpyrrole

La dernière voie de synthèse, mise au point par Burgess *et al.*, consiste à condenser sur lui-même le 2-formylpyrrole en milieu acide (Figure 96).²⁸⁰ Cette synthèse conduit à un BODIPY symétrique non substitué en position *meso*.

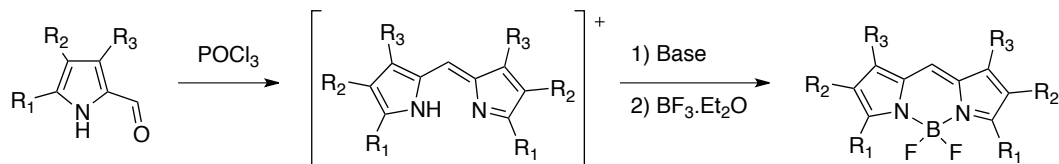


Figure 96 : Synthèse de BODIPY à partir de l'auto-condensation du formylpyrrole.

Toute une série de BODIPYs a été ainsi synthétisée à partir de pyrroles substitués par des chaînes aliphatiques mais aussi par des groupes aromatiques, avec des rendements variables allant de quelques traces à 92%. Ces rendements s'expliquent par la réactivité du formylpyrrole dont les propriétés nucléophiles sont modulées par la nature des substituants. Cependant, cette voie de synthèse ne permet pas d'obtenir des BODIPYs substitués en position *meso*.

II.1.4 Synthèse du BODIPY 4-carboxyphényle

Le précurseur BODIPY portant une fonction acide carboxylique en position *meso* a été choisi. La synthèse de ce composé a déjà été décrite dans la littérature selon Tomasulo *et al.*,²⁸¹ pour pouvoir permettre de le préparer à l'échelle du gramme.

La première voie de synthèse avec l'aldéhyde a été privilégiée (cf II.1.1). Pour cela, deux équivalents de 2,4-diméthyl-3-éthylpyrrole et un équivalent de 4-carboxybenzaldéhyde sont mis en solution en présence d'acide trifluoroacétique (TFA) dans le dichlorométhane durant 24 h. Littler *et al.*²⁸² ont démontré que l'acide trifluoroacétique conduisait à des meilleurs résultats. Les réactions catalysées par du TFA limitent la formation d'un sous produit, le « *N*-confused dipyrromethane », facilitant ainsi les conditions de purification (Figure 97). Il est à noter cependant que, dans notre cas, la formation de ce sous-produit n'est pas possible puisque l'unité pyrrole est trisubstituée.

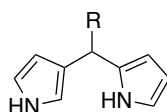


Figure 97 : Structure du « *N*-confused dipyrromethane ».

La deuxième étape est une oxydation par du 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone (DDQ) aboutissant au dipyrrométhène. Enfin, de la triéthylamine ainsi que du BF₃.Et₂O sont ajoutés à la solution pour l'introduction du motif « BF₂ » (Schéma 32). Cette séquence de réactions « one pot » conduit au composé **50** avec un rendement de 56%.

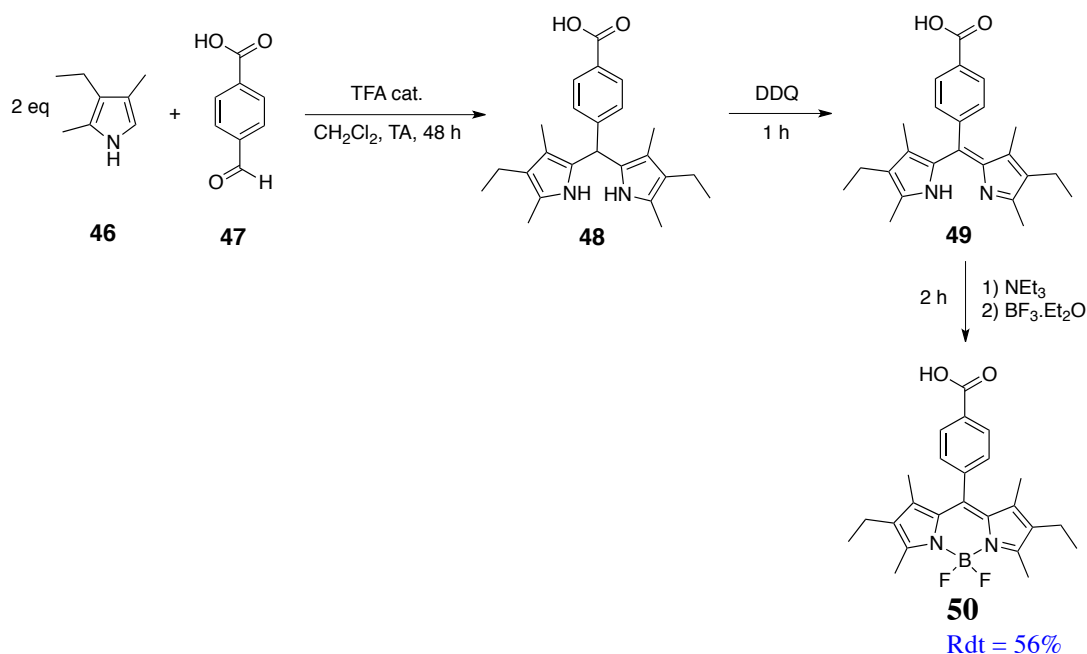


Schéma 32 : Synthèse du BODIPY 4-carboxyphényle 50.

Pour l'étape d'oxydation, l'utilisation du chloranil (tétrachloro-*p*-benzoquinone) est souvent préférée par rapport à son analogue dicyano, la DDQ.²⁸³ Il permet généralement d'avoir une réaction plus propre. En effet, même si peu de références l'évoquent, il n'est pas rare d'isoler, après purification, un BODIPY résultant d'un clivage oxydant. Ce BODIPY présente en position *meso* un atome d'hydrogène à la place du substituant carboné attendu (ici, le 4-carboxyphényle). De ce fait, nous avons également testé la réaction d'oxydation en présence de chloranil mais aucune amélioration du rendement n'a été observée.

II.2 Synthèses du ligand BODIPY-aryl phosphine

La stratégie de synthèse visant à lier une triarylphosphine à une unité BODIPY est décrite sur la Figure 98. L'espaceur utilisé est l'éthylènediamine.

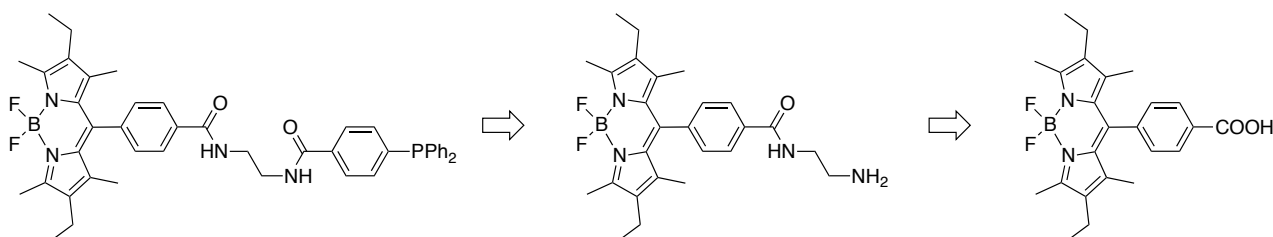


Figure 98 : Stratégie de rétrosynthèse du ligand BODIPY-triarylphosphine.

II.2.1 Synthèse du synthon BODIPY éthylènediamine

Le synthon BODIPY amine est synthétisé à partir du précurseur BODIPY portant un acide benzoïque **50** en position *meso*. Dans un premier temps, un couplage direct a été testé en mettant en solution dans l'éthylène diamine le BODIPY acide à température ambiante pendant 18 h (Schéma 33). Cependant, le produit attendu **51** n'a pas été obtenu.

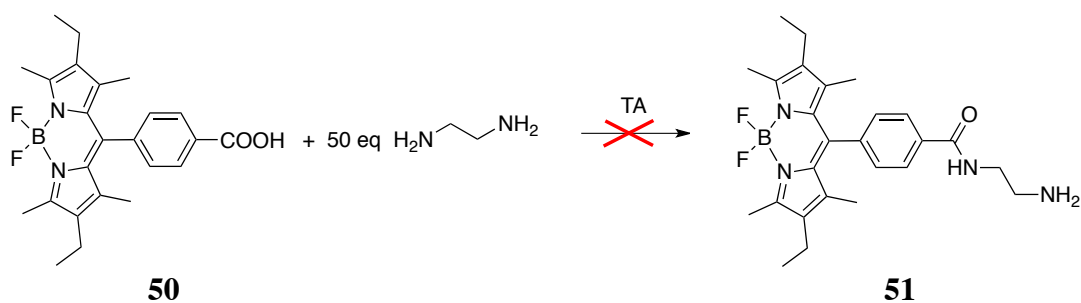


Schéma 33 : Voie utilisée pour la synthèse du BODIPY éthylènediamine.

Afin de favoriser le couplage peptidique, des agents de couplage tels que l'EDC.HCl (1-éthyl-3-(diméthylaminopropyl)carbodiimide) et le BtOH (hydroxybenzotriazole) ont été utilisés (Figure 99).

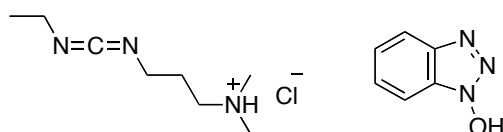


Figure 99 : Structure des agents de couplage EDC.HCl et BtOH.

Cependant après 24 h de réaction à température ambiante aucune trace du produit désiré **51** n'a été observée (Schéma 34).

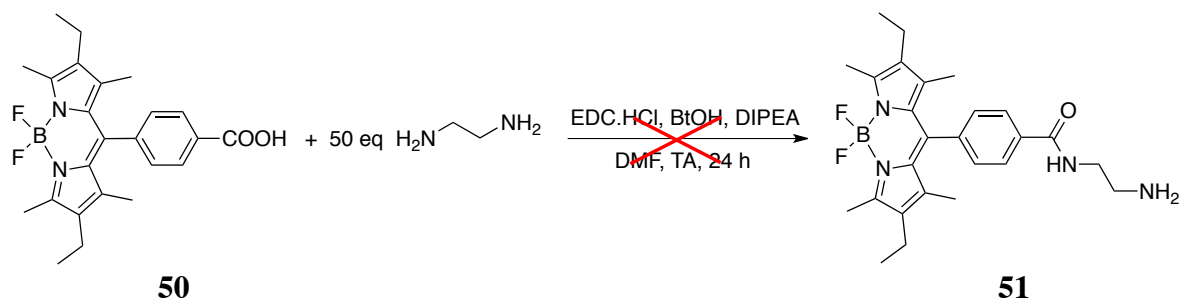


Schéma 34 : Voie employée pour la synthèse du BODIPY éthylènediamine.

Nous avons donc choisi d'activer la fonction acide carboxylique *via* un « ester activé ». Il a été obtenu quantitativement par réaction entre **50** et du *N*-hydroxysuccinimide (NHS) en présence d'EDC.HCl dans le dichlorométhane. Le composé activé **52** et 40 équivalents d'éthylènediamine ont ensuite été mis en solution dans le dichlorométhane et agités à température ambiante durant 2 h (Schéma 35).²⁰⁹ Le BODIPY amine **51** est obtenu avec un rendement quantitatif.

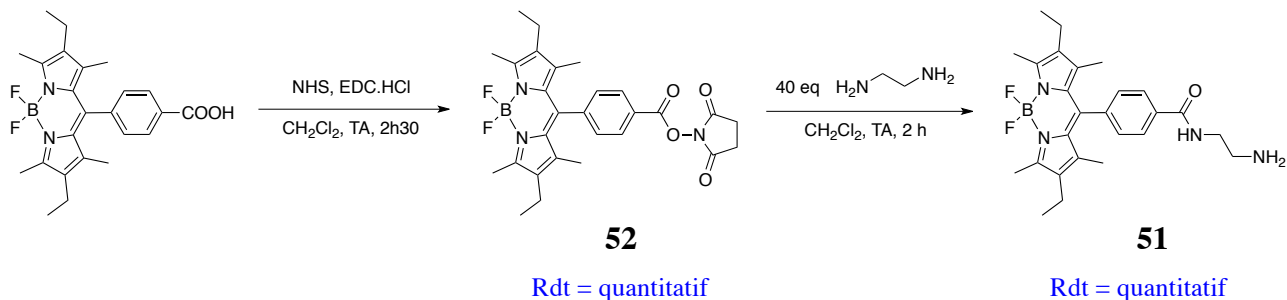


Schéma 35 : Synthèse du BODIPY éthylènediamine 51.

II.2.2 Approche convergente : couplage avec le dérivé ester activé ruthénium

Nous disposons au laboratoire l'ester activé aryldiphénylphosphine ruthénium **53**. Afin de proposer une synthèse la plus convergente possible, nous avons mis à réagir l'ester activé **53** et le précurseur BODIPY éthylènediamine **51** pendant 48 h (Schéma 36).

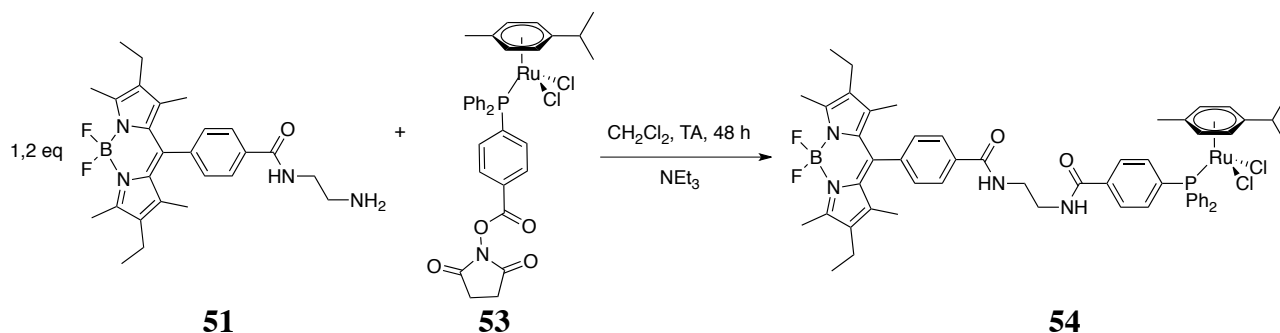


Schéma 36 : Synthèse du complexe BODIPY-ruthénium **54**.

Les analyses RMN ^1H et ^{31}P du brut réactionnel montrent un mélange des précurseurs (**51** et ester activé ruthénium **53**) et du produit désiré **54**. Les complexes phosphine-arène-Ru étant connus pour se dégrader sur colonne chromatographique (silice et alumine), nous avons essayé de faire une purification par cristallisation et par précipitation sélective. Malgré de nombreuses tentatives pour trouver un solvant adéquat pour la purification, aucun n'a donné de résultats satisfaisants. Faute d'une pureté suffisante du produit final, l'idée d'un couplage direct entre un BODIPY amine **51** et un ester activé aryldiphénylphosphine ruthénium a été abandonnée au profit d'une stratégie plus linéaire.

II.2.3 Approche linéaire : couplage peptidique avec le précurseur diphenylphosphine

L'étape clé de cette synthèse est la réaction de couplage entre la phosphine et le synthon BODIPY.

L'ester activé aryldiphénylphosphine **57** a été préparé en adaptant les travaux de Stelzer et *al.*²⁸⁴ Il a été obtenu en deux étapes : une réaction de couplage catalysée au palladium entre l'acide *p*-iodobenzoïque et la diphenylphosphine (rendement de 90%), suivie d'une activation de la fonction acide avec du NHS (rendement de 92%) (Schéma 37). Afin d'éviter l'oxydation de la phosphine, les réactions ont été réalisées sous atmosphère inerte.

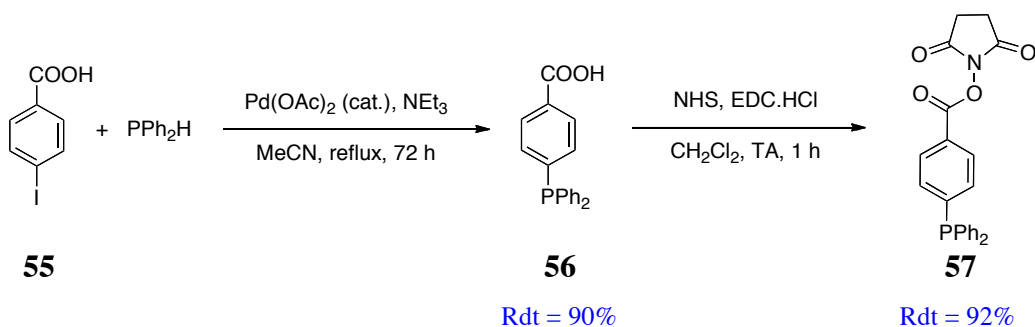


Schéma 37 : Synthèse de l'ester aryldiphénylphosphine **57**.

Le couplage peptidique entre l'ester activé aryldiphénylphosphine **57** et le précurseur BODIPY amine **51** a été réalisé en mettant les réactifs dans le chloroforme à reflux pendant 19 h en présence de triéthylamine (Schéma 38). L'avancement de la réaction a été suivi par CCM et par RMN ^{31}P no lock. Le signal du phosphore du réactif **57** se situe à $\delta = -5,3$ ppm et celui du produit **58** à $\delta = -6,4$ ppm. Cette différence de déplacement chimique permet de réaliser un suivi jusqu'à qu'il n'y ait plus d'évolution au niveau du ratio entre les deux singulets. Le ligand BODIPY phosphine **58** désiré est purifié par filtration sur silice (hauteur de silice de 3-4 cm) et isolé avec un rendement de 73%.

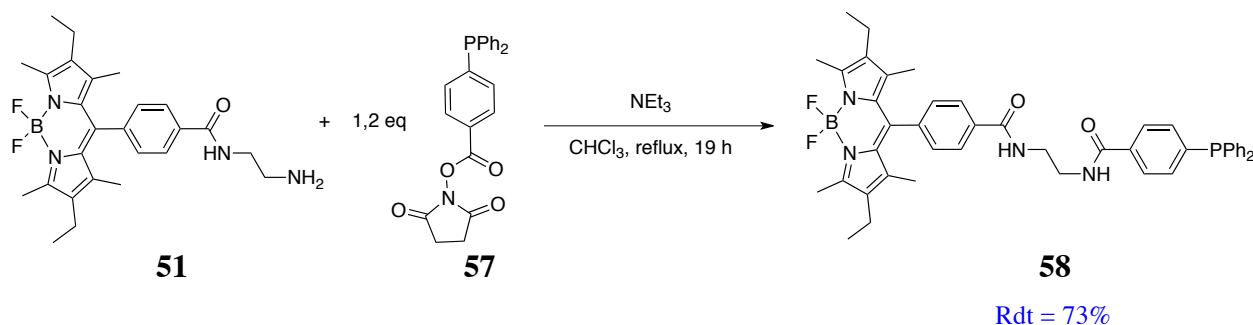


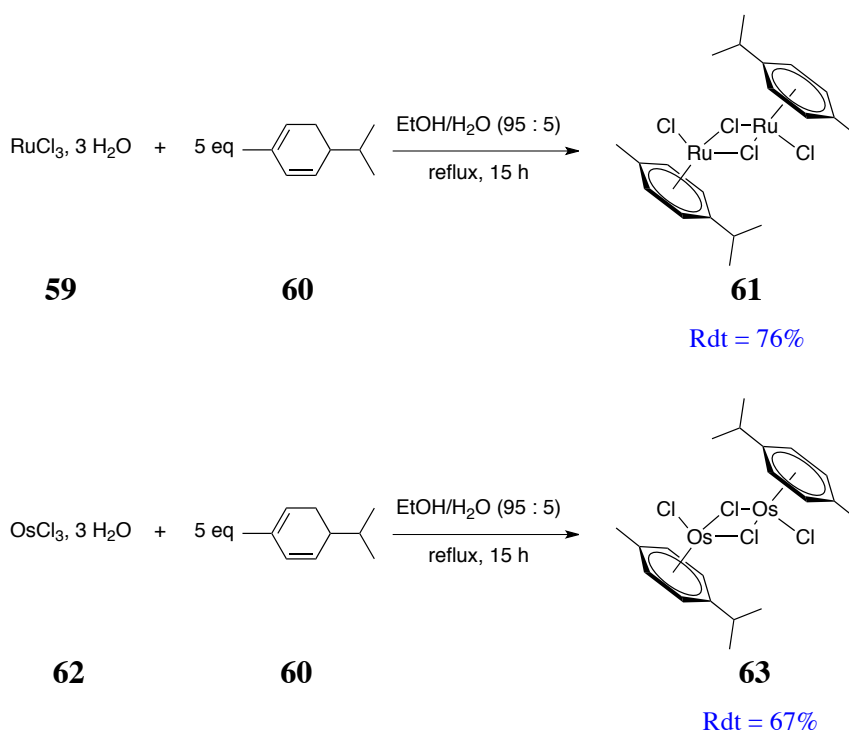
Schéma 38 : Synthèse du ligand BODIPY phosphine **58**.

II.3 Complexation sur le métal

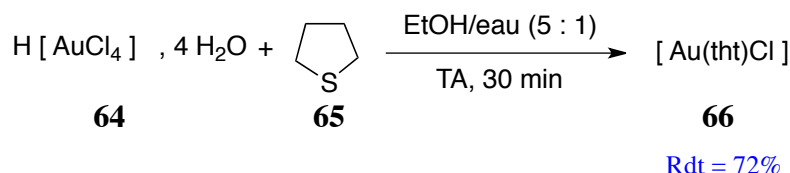
II.3.1 Synthèses des précurseurs

Comme mentionné dans l'introduction, certains dérivés du ruthénium et de l'or sont des agents anticancéreux très prometteurs. Ainsi, il nous a paru judicieux de travailler sur ce type de complexes organométalliques. De plus, au sein de notre laboratoire, nous utilisons régulièrement des précurseurs organométalliques : $[(p\text{-cymène})\text{RuCl}_2]_2$ (Ru^{II}) et $[\text{Au}(\text{tht})\text{Cl}]$ (Au^{I}) (THT = tétrahydrothiophène) qui permettent un accès rapide à ce genre de molécules. Ces précurseurs ont par exemple été utilisés pour la synthèse de complexes bimétalliques (titane-ruthénium, titane-or) et ont montré des résultats biologiques prometteurs.^{285,286} En effet, des tests ont été réalisés sur leurs propriétés anticancéreuses en étudiant notamment l'inhibition de l'enzyme Cathepsine B, soupçonnée de jouer un rôle dans la prolifération des cellules cancéreuses dans les métastases. Suite à ces résultats intéressants, nous nous sommes donc focalisés sur l'étude de la coordination du ligand BODIPY phosphine au ruthénium et à l'or. Un analogue de l'osmium (Os^{II}) a également été synthétisé pour voir son influence sur les propriétés optiques du BODIPY.

Les précurseurs dimériques de ruthénium et d'osmium sont obtenus par la réaction de l'1-isopropyl-4-méthylcyclohexa-1,3-diène avec le trichlorure de ruthénium et d'osmium respectivement, selon les procédures de Bennett.²⁸⁷ Pour synthétiser le dimère $[(p\text{-cymène})\text{RuCl}_2]_2$ **61**, le trichlorure d'osmium hydraté est mis à reflux durant 15 h dans l'éthanol à 95% avec le 1-isopropyl-4-méthylcyclohexa-1,3-diène **60**. Un précipité de couleur rouge est obtenu. Le surnageant est ôté par filtration par canule. Le précipité est ensuite lavé avec de l'éther diéthylique afin d'éliminer l'excès du cyclohexadiène. Un rendement de 76% est obtenu (Schéma 39). De manière identique, le dimère $[(p\text{-cymène})\text{OsCl}_2]_2$ **63** est obtenu avec un rendement de 67%.

Schéma 39 : Synthèse du précurseur dimérique de ruthénium **61** et d'osmium **63**.

Le complexe d'or $[\text{Au}(\text{tht})\text{Cl}]$ **66** est préparé en solubilisant $\text{H}[\text{AuCl}_4]$, 4 H_2O dans un mélange d'éthanol/eau distillée (5 : 1). Du tétrathydrothiophène (THT) est additionné goutte à goutte et un précipité blanchâtre est formé. Après 30 min d'agitation à température ambiante, le précipité est récupéré par filtration sur fritté puis lavé avec de l'éthanol absolu. Après séchage dans un Schlenk sous vide, un rendement de 72% est obtenu (Schéma 40).²⁸⁸

Schéma 40 : Synthèse du précurseur d'or **66**.

II.3.2 Complexation

Tous les complexes bimétalliques sont préparés à partir des dimères de ruthénium et d'osmium (**61** et **63**), et du complexe d'or (**66**).

Le ligand BODIPY phosphine **58** préalablement synthétisé a donc été mis en réaction avec 0,5 équivalent des précurseurs dimériques $[(p\text{-cymène})\text{RuCl}_2]_2$ **61** et $[(p\text{-cymène})\text{OsCl}_2]_2$ **63** dans le benzène à température ambiante durant 2 h (Schéma 41). Les complexes métalliques correspondants sont obtenus avec des rendements de 89% et 94% respectivement. Les synthèses des premiers complexes hétérobimétalliques « early-late » décrits au laboratoire ont été effectuées dans le benzène car ce solvant permet de faire précipiter le complexe cible. Les précurseurs étant solubles dans le benzène, ils sont facilement éliminés par filtration canule. Toutes les réactions de complexation sur les composés BODIPYs de ce chapitre ont été effectuées dans le benzène. Cependant, il s'est avéré que nos complexes et les précurseurs métalliques sont solubles dans le benzène. Elles sont maintenant réalisées dans le dichlorométhane.

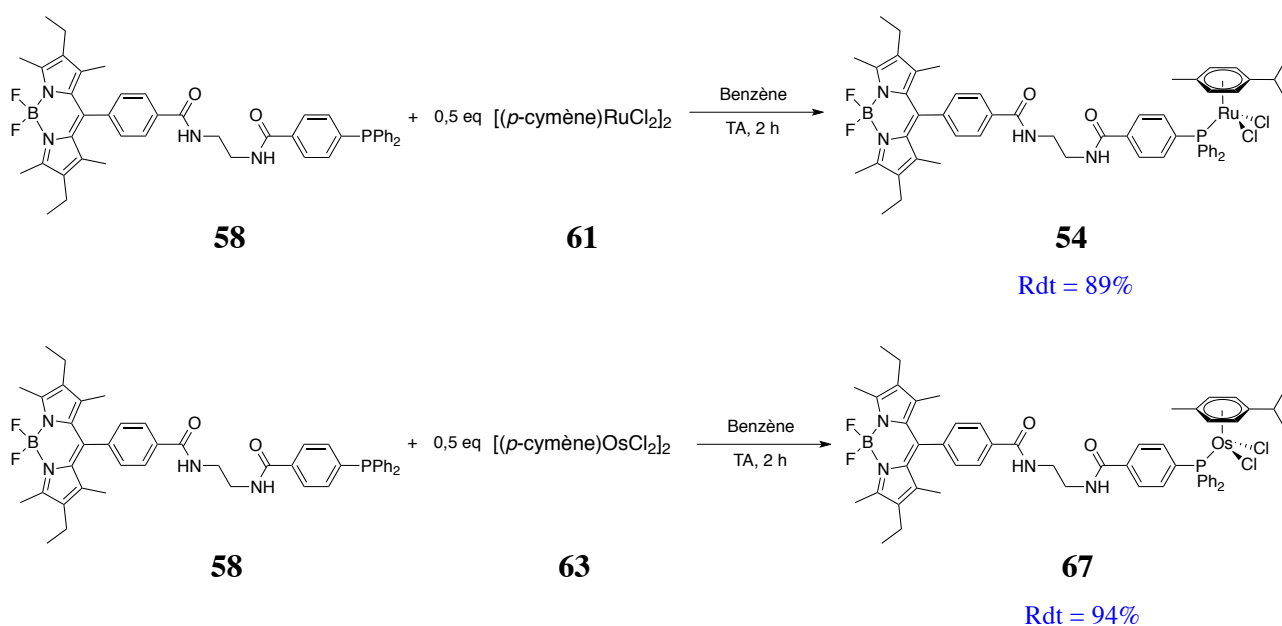


Schéma 41 : Synthèse des complexes BODIPY-ruthénium 54 et BODIPY-osmium 67.

Les réactions de complexation ont été suivies par analyse RMN ^{31}P . Un changement significatif du déplacement chimique a été observé entre le ligand non coordonné (singulet à $\delta = -5,5$ ppm) et les complexes (singulet à $\delta = 25,2$ ppm pour le dérivé du Ru et à $\delta = -12,4$ ppm pour celui de l'Os). Bien que l'osmium soit supposé se comporter comme le ruthénium, son effet sur la résonance magnétique du phosphore est significativement différent de celui du ruthénium. L'osmium et le ruthénium décalent, respectivement, le signal à haut et bas champ. De plus, les analyses RMN ^1H réalisées dans le CD_2Cl_2 confirment la formation des complexes avec une très bonne pureté (Figure 100).

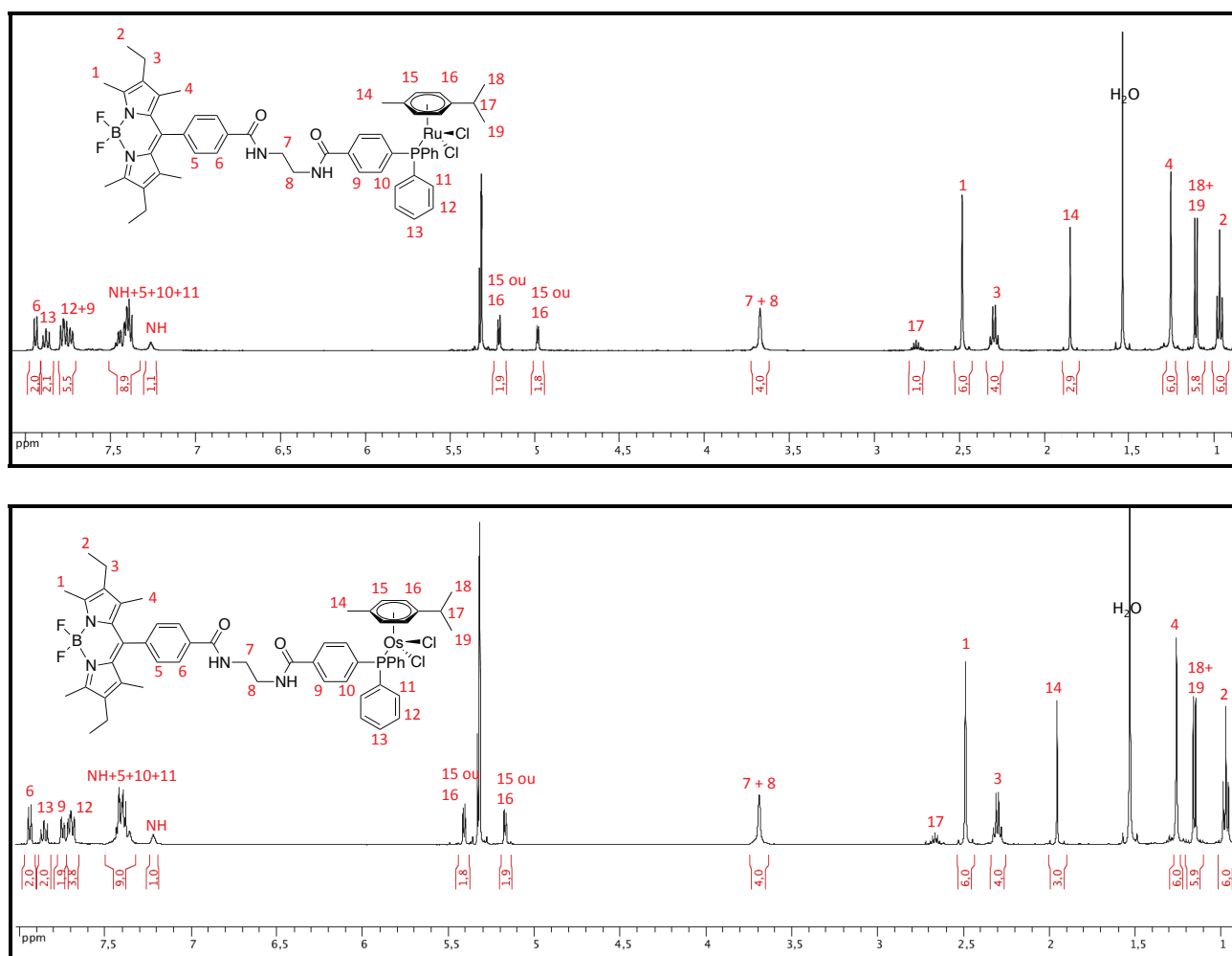
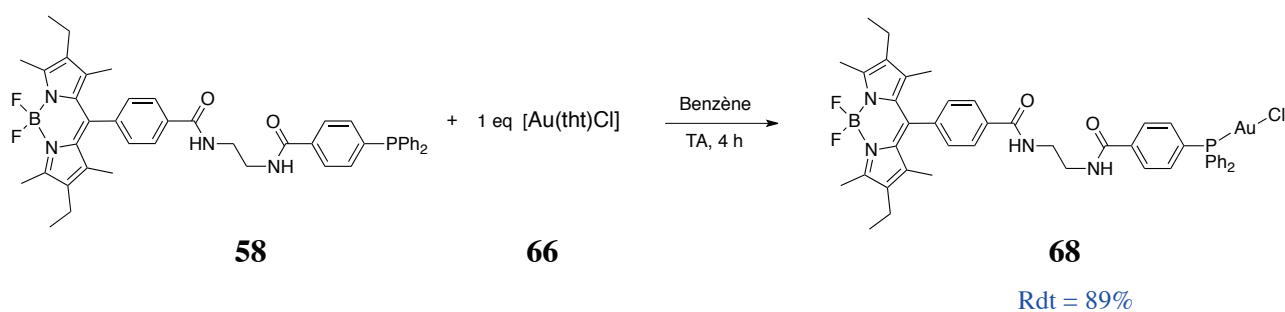


Figure 100 : Spectres RMN ^1H des composés **54** et **63** (500,13 MHz, CD_2Cl_2 , 300 K).

Le complexe d'or est synthétisé de la même manière que les complexes précédents en mettant en solution le ligand phosphine **58** et le précurseur d'or(I) $[\text{Au}(\text{tht})\text{Cl}]$ **66** dans le benzène à température ambiante durant 4 h (Schéma 42). Un rendement de 89% est obtenu.



La formation du complexe est également mise en évidence par un déblindage du signal RMN ^{31}P de plus de 30 ppm (singulet à $\delta = 32,9$ ppm) (Figure 101).

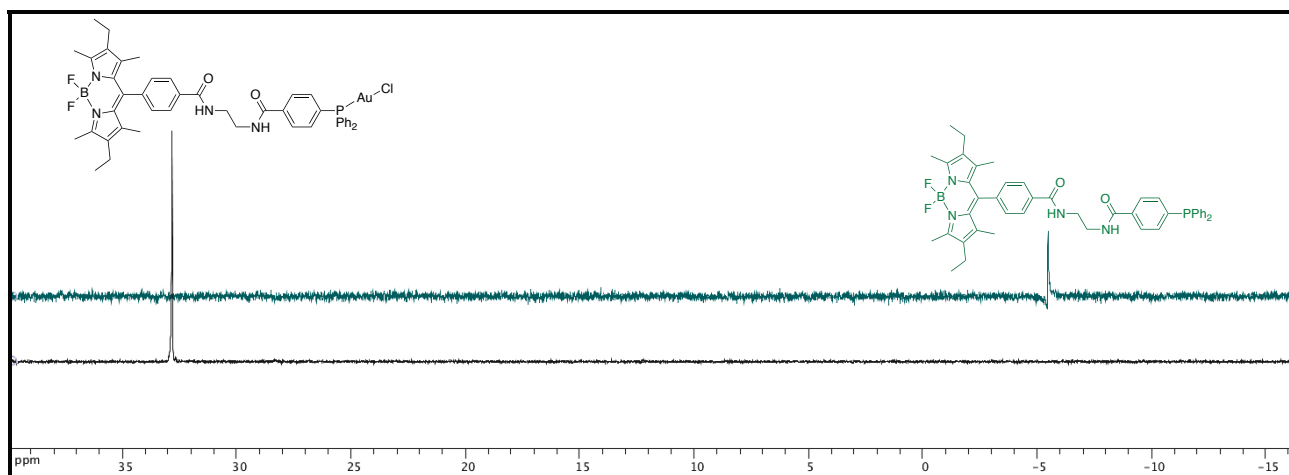


Figure 101 : Superposition des spectres RMN ^{31}P des composés **58** et **68** (202,5 MHz, CD_2Cl_2 , 300 K).

Ne pouvant utiliser la méthode par précipitation pour éliminer un des deux réactifs (cf. III.2.1), une stœchiométrie parfaite entre le ligand BODIPY phosphine **58** et le précurseur métallique doit être respectée. Ainsi, après évaporation du solvant du milieu réactionnel (benzène), les produits **54**, **67** et **68** ont été obtenus très purs. La pureté des complexes a été évaluée par RMN. Un seul signal correspondant au phosphore coordonné au métal est observé sur les spectres RMN ^{31}P des trois complexes (Figure 102). L'absence de ligand phosphine en excès dans les produits finaux a été confirmée.

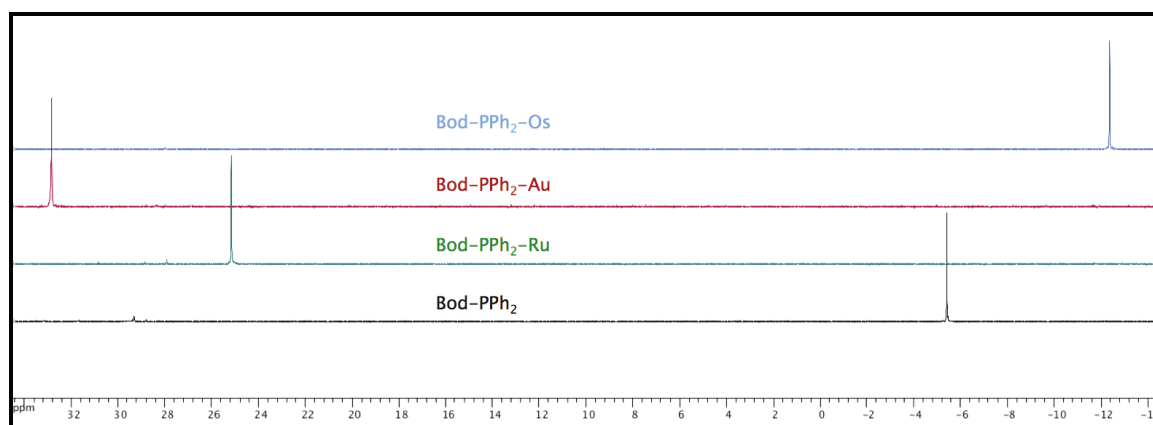


Figure 102 : Superposition des spectres RMN ^{31}P des trois complexes et du ligand phosphine libre (202,5 MHz, CD_2Cl_2 , 300 K).

De même, les spectres RMN ^1H des complexes ne présentent aucun signal correspondant aux précurseurs métalliques que ce soit du ligand *p*-cymène des dimères ou du tétrahydrothiophène (THT) du complexe d'or.

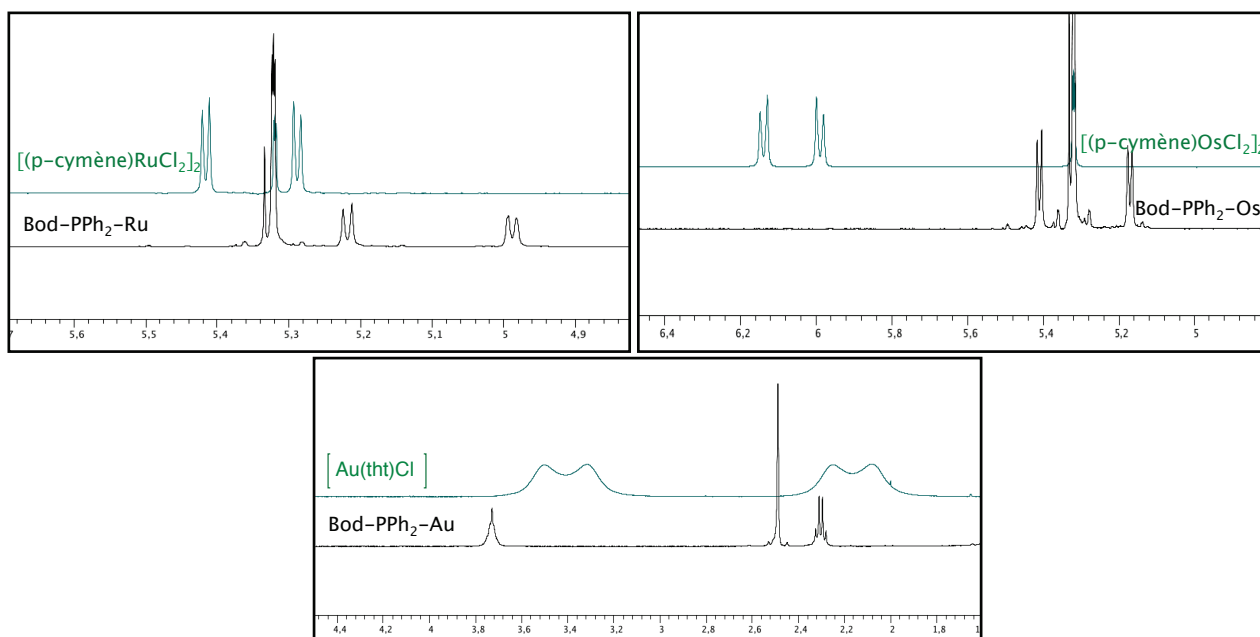


Figure 103 : Superposition des spectres RMN ^1H du précurseur et de son complexe correspondant (500,13 MHz, CD_2Cl_2 , 300 K).

À ce stade, il convient de préciser que toutes les étapes permettant d'accéder au complexe cible **54**, **67** ou **68** ont été optimisées. Le rendement global sur les neuf étapes est à 30-32%.

II.4 Tests pour augmenter l'hydrosolubilité

L'hydrosolubilité est un paramètre important quand on conçoit des produits pour des applications médicales. L'hydrophobie et la tendance à l'agrégation des BODIPYs pourraient être une limitation au développement de nos composés.

Pour y remédier un groupement PEG (polyéthylène glycol) est ajouté sur le BODIPY ester activé **52**. Le dérivé amphiphile « pegylé » peut être également intéressant pour la furtivité des composés (l'organisme ne reconnaît pas la molécule comme un corps étranger).²⁸⁹ Pour éviter la formation de dimères, un dérivé de PEG protégé par un groupement Fmoc (fluorénylméthoxycarbonyl) sur l'un des deux fonctions amines est utilisé.

La réaction de couplage entre le BODIPY ester activé **52** et le PEG-NHFmoc est réalisée dans le dichlorométhane durant 20 h à température ambiante en présence de triéthylamine (Schéma 43). Après consommation des réactifs (suivi par CCM), le composé **70** a été purifié par colonne chromatographique sur gel de silice. Un rendement quantitatif est obtenu.

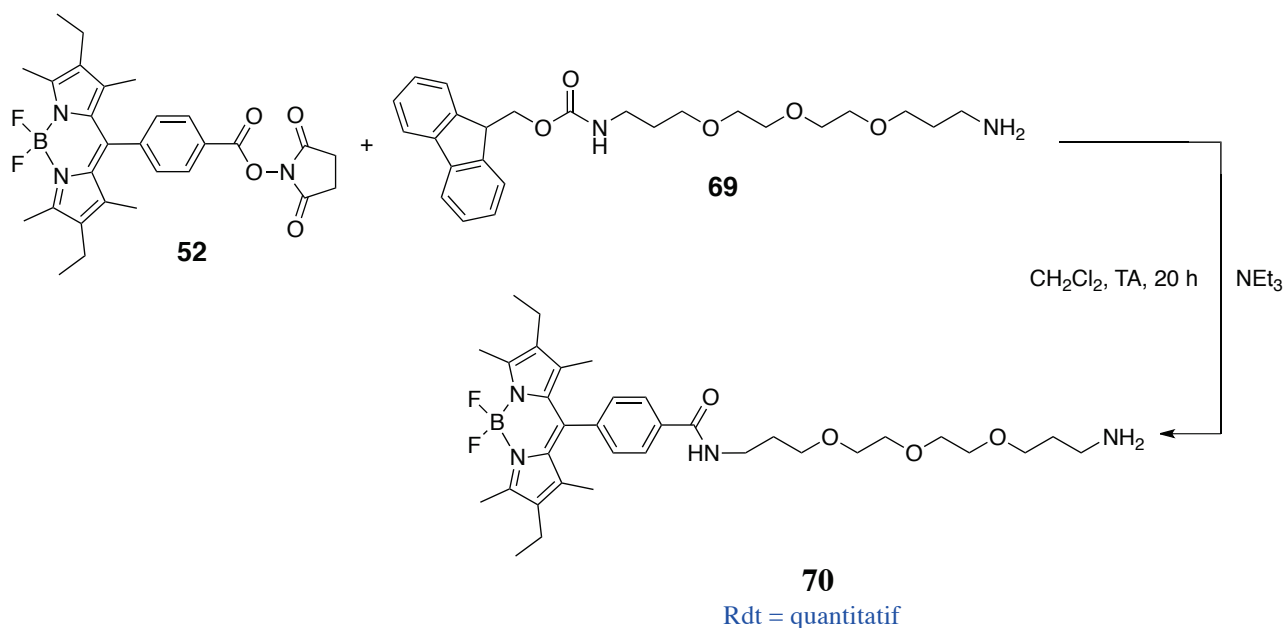


Schéma 43 : Synthèse du BODIPY-PEG 70.

Les analyses RMN ^1H et de spectrométrie de masse ESI-MS ont montré que le groupement PEG s'est déprotégé lors de la réaction. En analyse de masse, plusieurs pics moléculaires relatifs au composé **70** déprotégé sont observés, notamment un pic à $m/z = 607,4$ Da caractéristique de l'ion $[\text{M}-\text{F}]^+$, un pic à $m/z = 627,4$ Da pour l'ion $[\text{M}+\text{H}]^+$ et un pic à $m/z = 649,4$ Da pour l'ion $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (ionisation positive) (Figure 104).

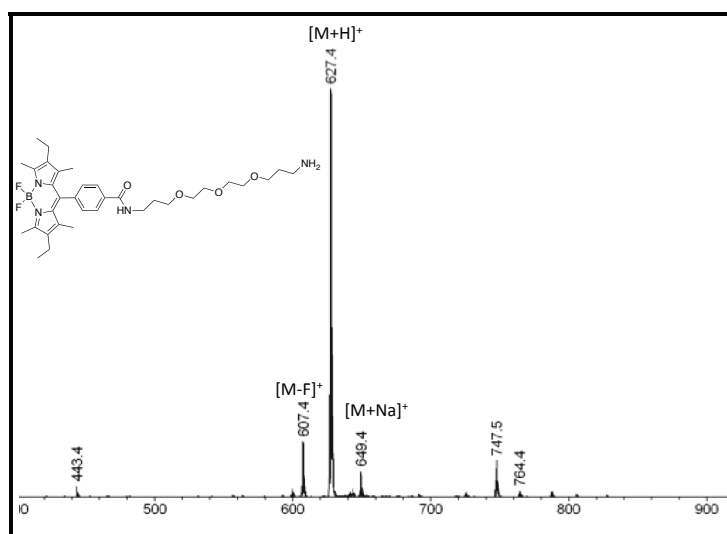


Figure 104 : Spectre de masse ESI-MS du composé 70.

Le composé **70** est mis en solution dans de l'eau afin de tester sa solubilité. Il est très faiblement soluble, même après passage sous ultrasons. Il semblerait qu'il y ait formation de micelles. Le PEG 400 n'est donc pas un groupement suffisamment « hydrosolubilisant » pour nos composés.

Dans la littérature, ce problème d'hydrosolubilité des BODIPYs est résolu en ajoutant des fonctions sulfonates en position β des unités pyrroliques ou sur l'espaceur (Figure 105).²⁹⁰⁻²⁹²

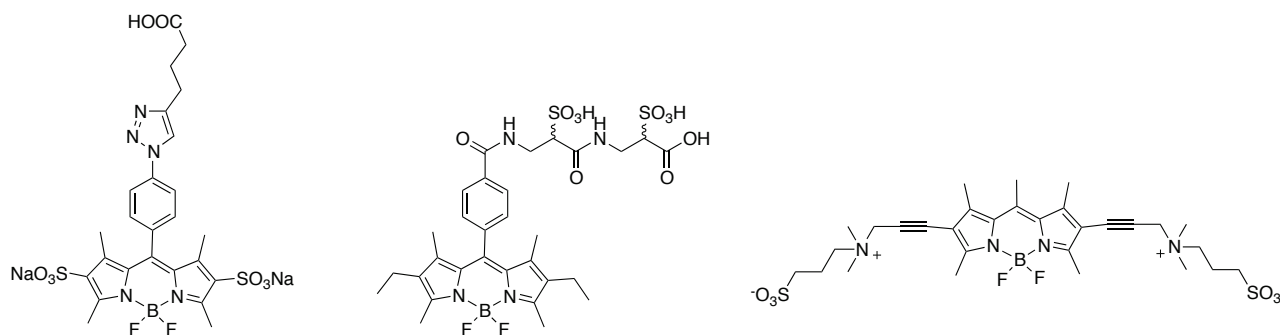


Figure 105 : Quelques exemples de BODIPYs hydrosolubles de la littérature.

Ces modifications sont actuellement à l'étude dans laboratoire et font partie d'un nouveau sujet de doctorat.

III. ÉTUDES PHOTOPHYSIQUES / PHOTOCIMIQUES

III.1 Propriétés d'absorption et de fluorescence

Dans nos systèmes de théranostiques développés, la partie diagnostique est représentée par une entité BODIPY. Ce BODIPY est utilisé pour réaliser de l'imagerie optique et plus précisément de la microscopie confocale de fluorescence (cf. IV.2). Pour ces raisons, des études photophysiques sont effectuées pour déterminer les propriétés d'absorption et de fluorescence des complexes synthésés.

Les études d'absorption et de fluorescence ont été réalisées sur le BODIPY acide, le ligand phosphine **58** ainsi que sur les complexes de ruthénium **54**, d'osmium **67** et d'or **68** à 298 K dans le DMSO dégazé et préalablement séché sur tamis moléculaire. Les mesures de fluorescence ont été effectuées à une longueur d'onde d'excitation de 488 nm. Les concentrations ont été choisies de manière à ce que l'absorbance à la longueur d'onde de 488 nm soit comprise entre 0,04 et 0,07. La rhodamine 6G a servi de référence pour les mesures de rendements quantiques. Son rendement quantique est de 78% dans l'eau à une longueur d'onde d'excitation de 488 nm.

Les spectres d'absorption, d'émission et d'excitation du ligand BODIPY phosphine **58** ont été regroupés sur le même graphique et réalisés dans le DMSO à 298 K (Figure 106).

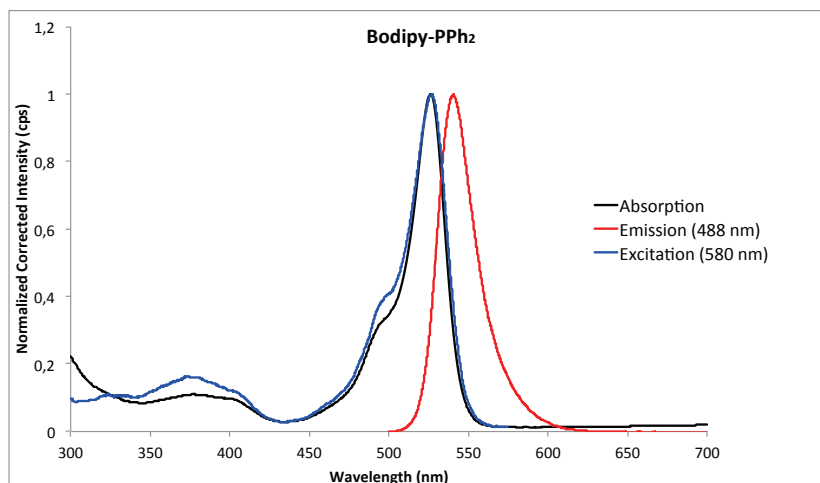


Figure 106 : Spectres d'absorption, d'émission et d'excitation du composé **58** dans le DMSO ($\lambda_{ex} = 488 \text{ nm}$).

Le spectre d'absorption présente une bande intense à 526 nm correspondant aux transitions $S_0 \rightarrow S_1$ de la partie BODIPY de type $\pi \rightarrow \pi^*$. Une seconde bande beaucoup plus faible et plus large, se situant à 380 nm, correspond aux transitions $S_0 \rightarrow S_2$. Ces bandes d'absorption sont caractéristiques des BODIPYs.²⁹³

Un seul maximum d'émission est observé, sous la forme d'une bande d'émission parfaitement symétrique (image miroir) du spectre d'absorption. Une excitation dans la bande d'absorption $S_0 \rightarrow S_1$, à $\lambda_{ex} = 488$ nm, entraîne une émission du BODIPY à 539 nm avec un rendement quantique de fluorescence de 95%. Le déplacement de Stokes observé est faible, de l'ordre de 460 cm^{-1} , preuve qu'à l'état excité aucune réorganisation profonde de la molécule ne se produit.

Les spectres des différents complexes **54**, **67** et **68** présentent également des caractéristiques usuelles des BODIPYs, à savoir des bandes d'absorption intense $S_0 \rightarrow S_1$. Les données spectroscopiques du BODIPY-acide **50** ainsi que des autres composés sont rassemblés dans le Tableau 6.

Composés	Solvant	λ_{abs} (nm)	ϵ ($M^{-1}\text{ cm}^{-1}$)	λ_{em} (nm)	$\Delta\nu$ (cm^{-1})	$\Phi_F^{a,b}$ (%)
Bod acide 50	DMSO	523	83400	536	460	100
Bod PPh ₂ 58	DMSO	526	55300	539	460	95
Bod-Ru 54	DMSO	526	70500	539	460	57
Bod-Os 67	DMSO	526	66900	539	460	52
Bod-Au 68	DMSO	526	59200	539	460	85

Tableau 6 : Données spectroscopiques du BODIPY-acide 50, du ligand 58 et des différents complexes (54, 67 et 68) à 298 K. ^a $\lambda_{ex} = 488$ nm. ^bRhodamine 6G utilisée comme référence, $\Phi_F = 0,78$ dans l'eau, $\lambda_{ex} = 488$ nm.²⁹⁴ Toutes les valeurs de Φ_F sont corrigées à partir de l'indice de réfraction des solvants. L'incertitude est de $\pm 10\%$ de la valeur rapportée.

Par comparaison des maxima d'absorption du composé modèle BODIPY acide et du ligand BODIPY phosphine **58**, le passage de la fonction acide à la fonction amide déplace peu les maxima. Aucun changement net n'est constaté en absorption et un décalage de 3 nm vers le rouge est observé en émission. La présence de la fonction phosphine n'interfère donc pas avec l'unité BODIPY et exclut donc la probabilité d'une conformation repliée de la dyade.

De même, les faibles déplacements de Stokes observés pour tous les composés signifient qu'aucune réorganisation structurale profonde de la molécule ne se produit à l'état excité. Pour tous les fluorophores, les déplacements de Stokes ($\Delta\nu \approx 460\text{ cm}^{-1}$) sont comparables à d'autres familles de BODIPY *meso*-aryl substitué (BODIPY-tolyle 392 cm^{-1} , BODIPY-acide benzoïque 501 cm^{-1} , BODIPY-aniline 545 cm^{-1} , etc.).²⁹⁵

Le ligand **58** dans le DMSO présente une bande d'émission de fluorescence typique à 539 nm avec un rendement quantique de fluorescence $\Phi_F = 95\%$. Cette longueur d'onde est insensible à la complexation ($\lambda_{em} = 539$ nm pour **54**, **67**, **68** dans le DMSO). Il est intéressant de noter que la fluorescence n'est pas ou peu affectée par la coordination de l'Au^I ($\Phi_F = 85\%$), mais est modérément inhibée dans le cas du Ru^{II} et Os^{II} ($\Phi_F = 57$ et 52% respectivement), qui sont possiblement sujettes à un transfert d'électrons photoinduits. Néanmoins, les rendements quantiques de fluorescence de **54** et **67** restent relativement élevés pour ces sondes fluorescentes.

Les spectres d'absorption et d'émission de ces composés ont été également réalisés dans des solvants différents, le THF et le 2-MeTHF respectivement (Tableau 7).

Composés	Solvant	λ_{abs} (nm)	ϵ (M ⁻¹ cm ⁻¹)	Solvant	λ_{em} (nm)	$\Delta\nu$ (cm ⁻¹)	$\phi_F^{\text{a,b}}$ (%)
Bod PPh ₂ 58	THF	525	76400	2-MeTHF	541	563	69
Bod-Ru 54	THF	525	74900	2-MeTHF	539	495	41
Bod-Os 67	THF	525	67600	2-MeTHF	539	495	28
Bod-Au 68	THF	525	68400	2-MeTHF	540	529	61

Tableau 7 : Données spectroscopiques des composés 58, 54, 67, 68 à 298 K. ^a $\lambda_{\text{em}} = 470$ nm. ^bRhodamine 6G utilisée comme référence, $\phi_F = 0,94$ dans MeOH, $\lambda_{\text{em}} = 470$ nm.²⁹⁶ Toutes les valeurs de ϕ_F sont corrigées à partir de l'indice de réfraction des solvants.

Les propriétés photophysiques sont un peu influencées par la nature du solvant (DMSO et 2-MeTHF). Les maxima d'absorption et d'émission sont indépendants de la polarité des solvants, indiquant qu'aucun changement significatif du moment dipolaire n'a lieu à l'état excité. Les rendements quantiques des composés mesurés dans le 2-MeTHF sont un peu plus bas mais du même ordre que ceux mesurés dans le DMSO. La nature du solvant n'influence pas ou peu les mesures, mise à part qu'elle abaisse les valeurs du rendement quantique. En effet, plus le solvant est visqueux, plus le rendement quantique de fluorescence augmente.

Tous ces composés présentent donc les caractéristiques usuelles des BODIPYs, à savoir des bandes d'absorption intenses $S_0 \rightarrow S_1$. Les propriétés de luminescence sont également comparables aux propriétés usuelles des BODIPYs. Les rendements quantiques mesurés ont des valeurs très importantes, modérément désactivé pour les composés **54** et **67** mais suffisantes pour réaliser les études de microscopie confocale de fluorescence.

III.2 Mesures de temps de vie

La durée de vie de la fluorescence τ_F est l'une des caractéristiques les plus importantes d'une molécule fluorescente parce qu'elle définit la fenêtre de temps d'observation des phénomènes dynamiques.

Les mesures des temps de vie ont été réalisées à 298 et à 77 K dans le 2-MeTHF séché et distillé pour les composés **58**, **54**, **67** et **68**. La longueur d'onde d'émission utilisée pour la mesure est de 540 nm à 298 K et de 533 nm à 77 K (Tableau 8). Elle correspond au maxima des spectres d'émission. La durée de vie d'une population homogène de fluorophores est très souvent indépendante de la longueur d'onde d'excitation λ_{ex} (470 nm pour nos composés dans le 2-MeTHF), comme c'est le cas pour le spectre d'émission.

Composés	Solvant	ϕ_F à 298 K (%)	τ_F à 298 K (ns)	τ_F à 77 K (ns)
Bod-PPh ₂ 58	2-MeTHF	69	4,18	7,78
Bod-Ru 54	2-MeTHF	41	3,81	4,75
Bod-Os 67	2-MeTHF	28	3,27	6,55
Bod-Au 68	2-MeTHF	61	4,26	7,85

Tableau 8 : Valeurs des rendements quantiques (à 298 K) et des temps de vie (à 298 K et à 77 K) des composés 58, 54, 67 et 68 dans le 2-MeTHF.

Les durées de vie de l'ordre de la nanoseconde et les faibles déplacements de Stokes confirment que la luminescence observée est de la fluorescence. Ces données photophysiques sont caractéristiques de l'état singulet fluorescent du fragment BODIPY.²⁸³

III.3 Explication de l'inhibition de la fluorescence des composés **54** et **67**

La fluorescence d'une molécule dépend de son environnement. Lorsque l'émission de lumière dépend des caractéristiques du solvant (polarité, proticité ...), nous parlons de *solvatochromisme*. Une interaction entre le fluorophore et autre molécule peut aussi moduler la fluorescence. La quantité de lumière émise est donc plus faible en présence de cette molécule, appelée *inhibiteur*, qu'en son absence. Ce phénomène est appelé *inhibition de la fluorescence*.

Plusieurs mécanismes sont possibles pour déterminer l'inhibition du rendement quantique de fluorescence des complexes de ruthénium **54** et d'osmium **67**. Les différentes voies de désactivation de l'état excité S_1 sont : la conversion interne, le passage intersystème, le transfert d'énergie, le transfert d'électron et le transfert d'atome.

La conversion interne

Le facteur de collision interne peut être mis en jeu dans l'inhibition de la fluorescence de ces composés. La molécule est formée de deux particules A et B reliées entre elles par un ressort (liaison) ou une série de ressorts (Figure 107). Pour l'analyse conceptuelle des vibrations moléculaires, on utilise le simple modèle de l'oscillateur harmonique.

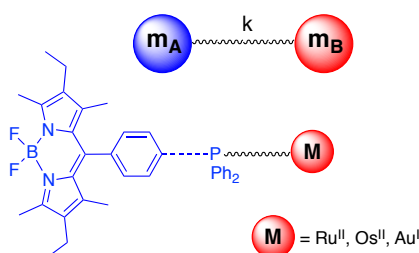


Figure 107 : Représentation de la molécule sous forme de deux particules reliées entre elles par un ressort.

La fréquence d'un oscillateur avec une constante de force k et une masse réduite μ est donnée par cette formule :

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

avec k = constante de force de la liaison entre les deux particules A et B

$$\mu = \text{masse réduite du système A-B} : \mu = \frac{m_A \times m_B}{m_A + m_B}$$

La fréquence de vibration est donc inversement proportionnelle à la masse réduite μ . La fréquence diminue lorsque la masse réduite augmente.

Dans un état excité, la molécule se relaxe vers l'état fondamental en empruntant les niveaux vibrationnels de celle-ci. De plus, les complexes à base de ruthénium **54** et d'osmium **67** ont une masse réduite plus élevée que le complexe d'or **68**, ce qui engendre une fréquence de vibration petite et une densité d'états grande. La molécule relaxe alors plus vite. La durée de vie de l'état excité est donc plus courte pour les complexes de ruthénium et d'osmium (cf. Tableau 7). De plus, il y a trop de liens flexibles dans le pont, donc les deux chromophores agissent quasi

indépendamment. Les vibrations jouent donc un rôle modeste dans la structure. L'inhibition du rendement quantique de la fluorescence des complexes **54** et **67** ne s'explique pas par la conversion interne.

Le passage intersystème

Pour proposer une explication possible de l'inhibition de la fluorescence des composés **54** et **67**, il faut rappeler que le ruthénium(II) et l'osmium(II) sont des métaux lourds et ont une orbitale d⁶. Or, la présence d'atomes lourds tels que le brome Br et l'iode I, ou de métaux lourds augmente le couplage spin-orbite.²⁹⁷ Les interactions spin-orbite favorisent le passage intersystème. Le croisement intersystème est une transition non radiative entre deux niveaux vibrationnels appartenant à des états électroniques de multiplicités différentes (Figure 108). Le passage intersystème peut être suffisamment rapide (10^{-8} - 10^{-10} s). Le passage entre des états électroniques de multiplicités différentes est en principe interdit et la molécule ne peut pas émettre de rayonnement de l'état d'énergie plus basse. Toutefois, le couplage spin-orbite peut aussi entraîner une transgression de la règle de sélection.

Le couplage spin-orbite est un mélange de fonctions d'ondes électroniques et de spin du noyau. Ce mélange fait en sorte que la fonction d'onde électronique est moins « pure » (moins singulet « pure » et moins triplet « pure ») et donc les règles de sélection singulet-triplet sont moins rigoureuses. L'électron qui gravite autour de l'orbitale du spin du noyau a une fonction d'onde totale (électronique, vibrationnelle, magnétique). Dans une situation normale, le spin du noyau n'influence pas celui de l'électron. Toutefois, en présence d'atomes lourds ou de noyau plus gros, le spin du noyau peut influencer le spin global de l'électron et donc favoriser le passage intersystème.

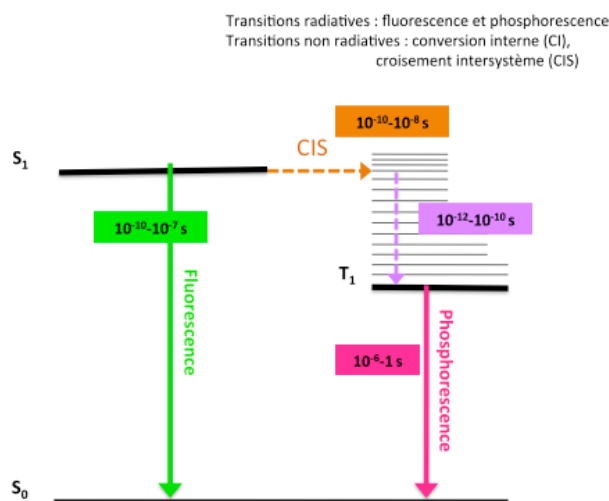


Figure 108 : Diagramme de Jablonski.⁶³

Une transition électronique revient à promouvoir un électron dans une orbitale vacante d'énergie supérieure. Les spins des électrons sont couplés magnétiquement en tout temps donc + 1/2 avec - 1/2. Il existe donc un seul degré de liberté qui est l'état singulet. En présence d'atomes lourds, les électrons ne sont pas couplés et sont libres d'adopter n'importe quel spin. Il existe donc quatre combinaisons possibles : + 1/2 et + 1/2 = + 1, - 1/2 et - 1/2 = - 1, + 1/2 et - 1/2 = 0, - 1/2 et + 1/2 = 0. On peut donc observer trois scénarios de somme des spins donc trois degrés de liberté possibles, l'état triplet étant la plus stable (Figure 109).

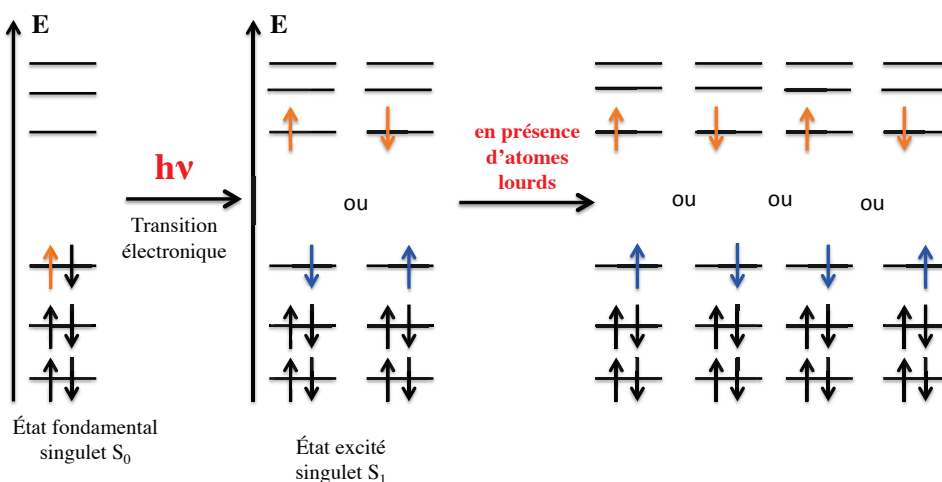


Figure 109 : Configuration des spins dans les différents états.

Cependant, l'inhibition du rendement quantique ne peut pas être expliquée par le couplage spin-orbite puisque le rendement quantique du complexe d'or **68** n'est pas influencé. Or, l'or est également un métal lourd. L'or est un métal plus lourd que le ruthénium et l'osmium, donc le couplage spin-orbite doit être normalement plus influencée. Les résultats du Tableau 8 montrent l'inverse de ce qu'on devrait observer puisque le rendement quantique de fluorescence n'est pas influencé par rapport à son ligand PPh_2 **58**. Cette inhibition par un couplage spin-orbite peut être également ôtée due à la distance très longue ($> 17 \text{ \AA}$) entre le fluorophore BODIPY et le dérivé métallique (Figure 110). Toutefois, ce couplage aurait pu être favorisé si la distance entre le BODIPY et le métal était plus courte soit par un pont de faible distance, soit par un rapprochement des deux chromophores, ce qui signifie donc que la structure des complexes est plutôt sous la forme « étalée » que repliée.

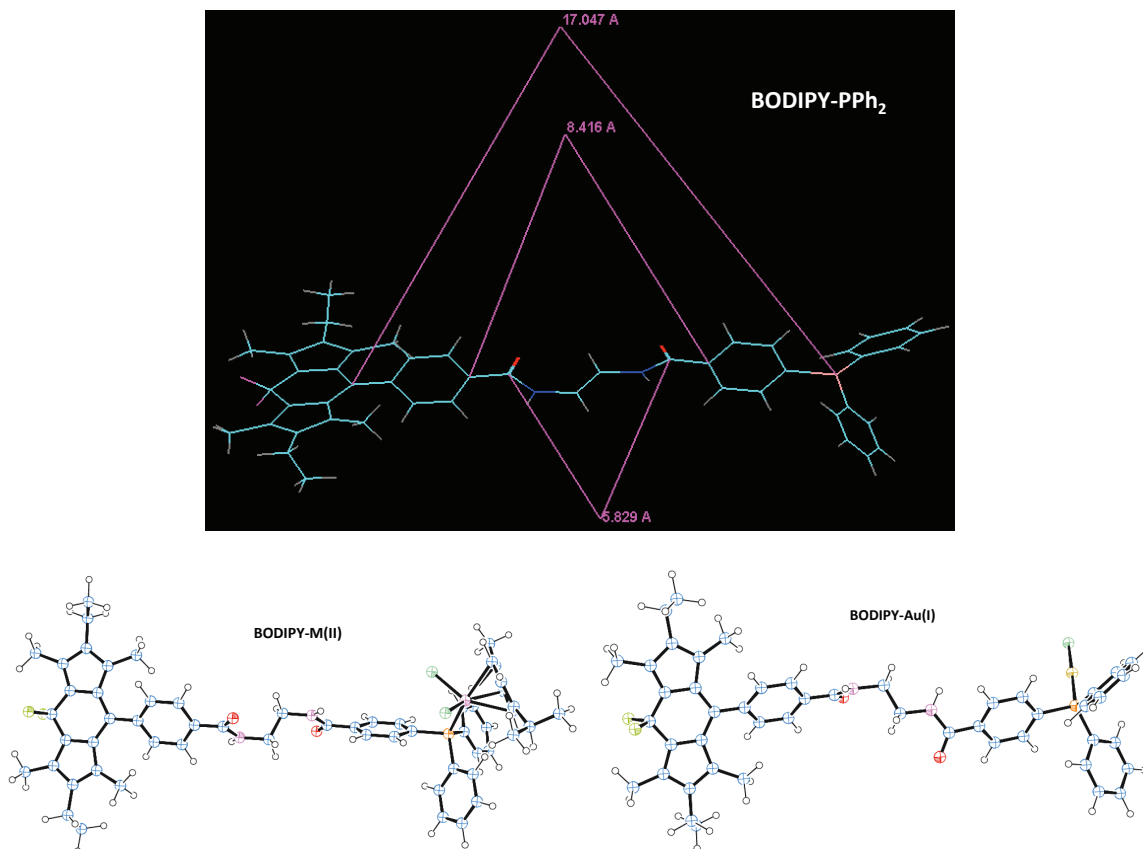


Figure 110 : Images générées des structures minimisées du ligand BODIPY- PPh_2 **58** et des complexes BODIPY- $M(II)$ **54** et **67**, BODIPY- $Au(I)$ **68** à l'aide du programme PCModel (version 9,20).

Le transfert d'énergie

L'énergie d'excitation d'un fluorophore peut être transférée à une autre molécule, ce qui induit une inhibition de la fluorescence. Lorsqu'une molécule contient une partie donneuse (D) et une partie accepteuse d'énergie (A), l'énergie due à l'excitation du donneur par la lumière peut être transmise à l'accepteur, il y a alors transfert d'énergie (Schéma 44).

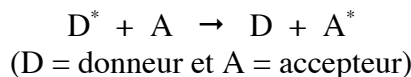


Schéma 44 : Transfert d'énergie d'une molécule excitée (donneur) à une molécule chimiquement différente (accepteur).

Ce phénomène a été largement étudié.²⁹⁸ Il s'agit d'un transfert non radiatif, c'est-à-dire se produisant sans émission de photon. Il résulte d'une interaction à courte ou longue distance entre les molécules. Il n'est possible qu'à condition que le spectre de fluorescence du donneur recouvre partiellement le spectre d'absorption de l'accepteur. Deux modèles possibles existent pour décrire ce processus de transfert d'énergie non radiatif.²⁹⁹ L'interaction d'échange (mécanisme de Dexter)¹⁸ et l'interaction coulombienne (mécanisme de Förster) sont distinguées.¹⁹

Le mécanisme de Dexter ou interaction d'échange correspond, comme son nom l'indique, à un processus de transfert d'énergie associé à l'échange de deux électrons entre A et D. Ce processus nécessite le recouvrement des orbitales du donneur et de l'accepteur, et par conséquent a lieu pour de courtes distances donneur-accepteur (inférieures à 10 Å). L'électron excité du donneur est transféré sur la plus basse orbitale vacante (LUMO) de l'accepteur tandis qu'un électron de la plus haute orbitale occupée (HOMO) de l'accepteur est transféré sur l'orbitale correspondante du donneur (Figure 111). Cet échange d'électrons a lieu simultanément, de sorte qu'aucun ion ne peut être détecté comme intermédiaire.

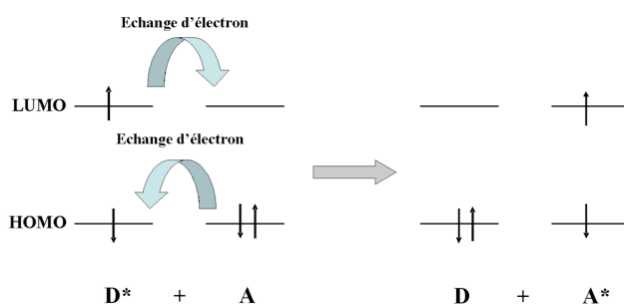


Figure 111 : Représentation du mécanisme d'interaction d'échange (Dexter).

La vitesse de transfert d'énergie du type Dexter est donnée par l'équation suivante :

$$k_{ET(Dexter)} = KJ \exp(-2r_{DA}/L)$$

où K est un facteur expérimental, r_{AD} est la distance entre le donneur et l'accepteur, L est la somme des rayons de Van der Waals des deux chromophores et J dépend de l'intégrale de recouvrement spectrale (émission du donneur et absorption de l'accepteur) :

$$J = \int f_D(\lambda) \varepsilon_A(\lambda) \lambda^4 d\lambda$$

où f_D est le spectre d'émission normalisé du donneur, et ε_A est le coefficient d'extinction molaire de l'accepteur.

L'interaction coulombienne de type Förster est une interaction dipôle-dipôle au cours de laquelle un électron initialement excité du donneur D retourne dans son orbitale de l'état fondamental de D, tandis qu'un électron de l'état fondamental de A passe simultanément dans l'état excité de A (Figure 112). L'énergie d'excitation est transférée à travers l'espace et par conséquent, ce type d'interaction a lieu sur de longues distances allant de 10 à 100 Å. Cette interaction nécessite que le spectre de fluorescence du donneur recouvre partiellement le spectre d'absorption de l'accepteur, afin qu'il y ait une correspondance en énergie entre des transitions vibroniques du donneur et des transitions vibroniques de l'accepteur (Figure 113).

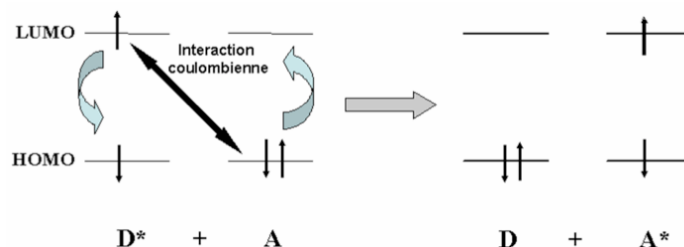


Figure 112 : Représentation du mécanisme d'interaction coulombienne (Förster).

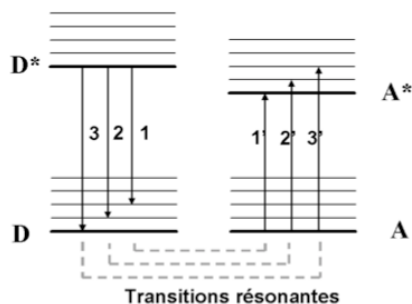


Figure 113 : Diagramme d'énergie montrant les transitions résonantes.

La vitesse de transfert d'énergie du type Förster est donnée par l'équation suivante :

$$k_{ET(\text{Förster})} = k_F^0(D) \frac{9000(\ln 10)\kappa^2}{128\pi^5 N_A \eta^4 r^6} \frac{\int_0^\infty F_D(\lambda) \epsilon_A(\lambda) \lambda^4 d\lambda}{\int_0^\infty F_D(\lambda) d\lambda}$$

où $k_F^0(D) = \frac{\phi_F^0}{\tau_F^0 \times \phi_F^0}$ et ϕ_F^0 et τ_F^0 sont respectivement le rendement quantique et la durée de vie de

fluorescence du donneur en l'absence de l'accepteur. η est l'indice de réfraction du solvant. r est la distance entre le donneur et l'accepteur. κ est un facteur d'orientation des dipôles dans l'espace. Les intégrales à droite représentent l'intégral du recouvrement du spectre d'émission du donneur ($F_D(\lambda)$) et le profil d'absorption de l'accepteur ($\epsilon_A(\lambda)$).

Généralement, les deux mécanismes décrits ci-dessus, à savoir l'interaction d'échange et l'interaction coulombienne, ont lieu simultanément lors d'un transfert d'énergie. Cependant, l'un est souvent prédominant devant l'autre. Lorsque les transitions impliquées dans A et D sont permises, tous les types d'interactions peuvent être mis en jeu dans le transfert d'énergie. Pour les transitions de type singulet-singulet, les mécanismes de Förster et Dexter interviennent, seule la distance

permet de favoriser un mécanisme. En ce qui concerne les transitions triplet-triplet, l'interaction coulombienne est négligeable et seul le mécanisme de Dexter intervient.⁶³

Le mécanisme de Dexter intervient lors des transitions singulet-singulet et triplet-triplet soit à travers un système conjugué, soit à travers l'espace à des distances courtes. Cependant, nos complexes ne contiennent pas de systèmes conjugués entre le fluorophore BODIPY et le dérivé métallique. De même, en vue de la Figure 110, les distances entre ces deux entités sont longues ($> 17 \text{ \AA}$). Pour diminuer cette distance, un recouvrement orbitalaire est également possible lorsque la molécule se replie sur elle-même, c'est-à-dire lorsque les deux chromophores se retrouvent l'une au dessus de l'autre. Or, nous n'observons pas de phénomènes de repliement en vue des résultats indiqués précédemment. Toutes ces observations indiquent que le mécanisme de Dexter ne peut s'appliquer pour nos complexes **54** et **67**. De plus, le spectre d'absorption de l'accepteur est beaucoup plus haut en énergie que le spectre d'émission du donneur (Figure 114). L'inhibition de la fluorescence pour les complexes BODIPY-Ru(II) **54** et BODIPY-Os(II) **67** n'est donc pas due à un transfert d'énergie de type Förster ou Dexter.

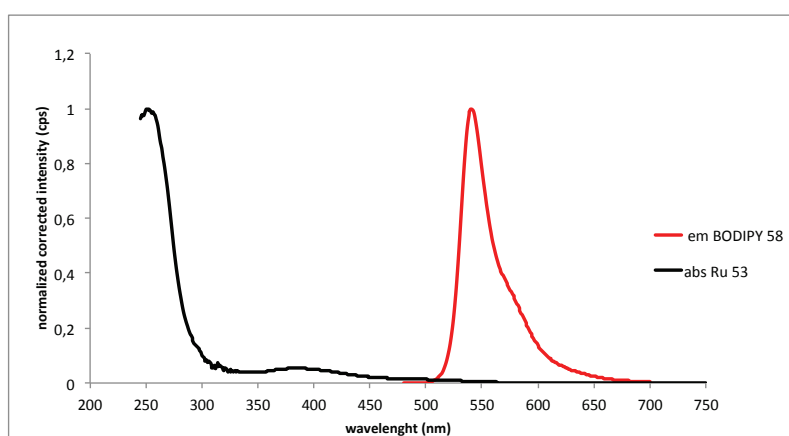


Figure 114 : Représentation des spectres d'absorption du complexe de ruthénium 53 et d'émission du ligand BODIPY 58.

Le transfert d'électron

Si les potentiels d'oxydo-réduction du fluorophore et de l'agent inhibiteur dans les états excités sont thermodynamiquement favorables, une oxydation ou une réduction du fluorophore à l'état excité peut se produire. Ce phénomène est appelé *transfert d'électron photoinduit* (PET pour *Photoinduced Electron Transfer*). Une étude électrochimique a été effectuée pour déterminer si le groupement BODIPY peut donner ou accepter un électron du dérivé du ruthénium(II). Pour cela, cette étude a été réalisée sur le dérivé triarylphosphine-ruthénium(II) **53** et des valeurs d'oxydoréduction d'un dérivé du BODIPY de la bibliographie ont été utilisées (Figure 115).³⁰⁰ Les études électrochimiques ont été réalisées par Dr. Charles Devillers de l'Université de Bourgogne (ICMUB).

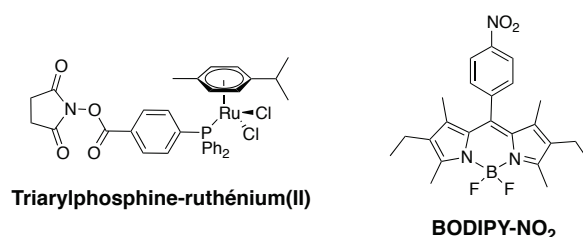


Figure 115 : Structure des composés utilisés pour l'étude électrochimique.

Les valeurs des potentiels, données en V vs. ECS, ont été mesurées en solution dans le dichlorométhane contenant 0,1 M de TBAFPF₆ (TBAF = tributylammonium) à 20 °C (Tableau 9).

Produits	3 ^{ème} réduction	2 ^{ème} réduction	1 ^{ère} réduction	1 ^{ère} oxydation
BODIPY-NO ₂		- 1,33 (60) ^b	- 1,09 (110) ^b	+ 1,05 (60) ^b
Triarylphosphine-Ru(II)	- 1,78 ^a	≈ - 1,03 ^a	≈ - 0,83 ^a	+ 1,16 (85) ^b

Tableau 9 : Valeurs des potentiels d'oxydoréduction du BODIPY et du dérivé du ruthénium. ^a E_{pc} système irréversible, ^b $E_{1/2}$ système réversible, les valeurs de ΔE_p ($\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc}$) sont données entre parenthèse (en mV). Les potentiels ont été standardisés en utilisant du ferrocène (Fc) comme référence interne et converties à ECS : ^b $E_{1/2}$ (Fc/Fc⁺) = + 0,38 V ($\Delta E_p = 70$ mV) vs. ECS pour les données de la bibliographie³⁶⁷ et ^b $E_{1/2}$ (Fc/Fc⁺) = + 0,44 V ($\Delta E_p = 85$ mV) vs. ECS pour nos données sur le dérivé du ruthénium.

En vue des potentiels d'oxydo-réduction du BODIPY-NO₂ et de la triarylphosphine-Ru(II), le transfert d'électron ne se produit pas à l'état fondamental. Ces données ont été représentées dans les diagrammes ci-dessous afin de mieux visualiser les résultats (Figure 116).

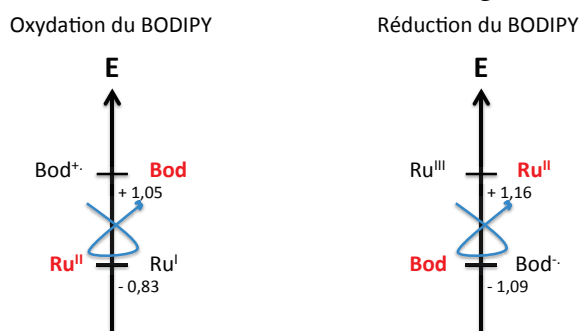


Figure 116 : Représentation des données électrochimiques à l'état fondamental.

Cependant, nous devons raisonner à l'état excité (Figure 117). Nous observons un spectre d'absorption à 526 nm à l'état singulet S₁ soit en valeur absolue à 2,357 eV. Ceci correspond à l'apport d'énergie dont bénéficie notre système pour conduire à un phénomène red/ox dans l'état excité S₁. Si nous considérons dans un premier temps la réduction du BODIPY et donc l'oxydation du Ru(II) en Ru(III), cela nécessite une énergie de 2,25 V (1,16 (E_{ox}(Ru^{III}/Ru^{II})) + 1,09 V (E_{red}(Bod/Bod⁻))). De plus, le phénomène redox entraîne l'apparition de charge donc impose au système de se réorganiser, ce qui consomme de l'énergie. L'écart d'énergie nécessaire récupéré par irradiation lumineuse ($\Delta = 0,12$ eV) apparaît faible pour obtenir une telle réorganisation.

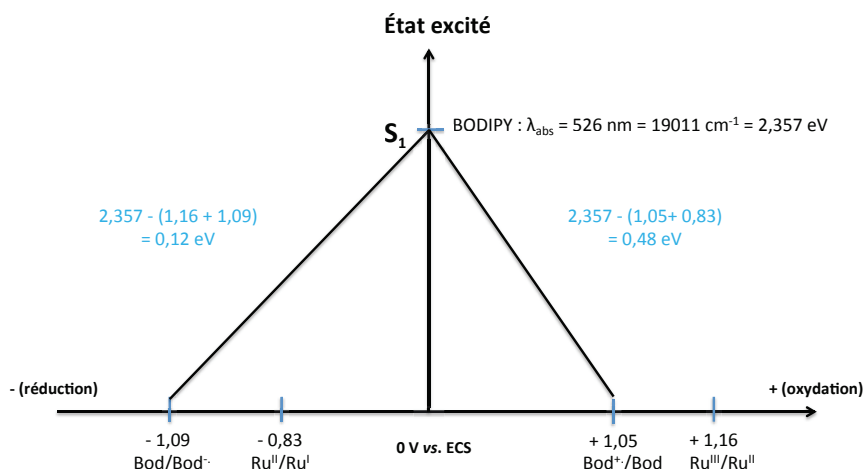


Figure 117 : Diagramme de Latimer modifié.

Si nous nous intéressons à l'oxydation du BODIPY et à la réduction du ruthénium, l'écart d'énergie potentiel est plus faible ($1,05 (E_{Ox}(Bod^+/Bod)) + 0,83 (E_{Red}(Ru^{II}/Ru^I)) = 1,88 \text{ V}$). Sous irradiation, nous disposons donc une « force motrice » de $0,48 \text{ V}$ vs ECS ($2,357 - 1,88 \text{ V}$) qui pourrait permettre d'obtenir un transfert d'électron entre ces deux entités. La distance entre les deux fragments est de 17 \AA (Figure 110), ce qui permet de rendre compte de la lenteur du transfert d'électron (Figure 118).

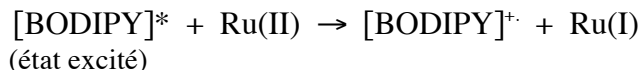


Figure 118 : Représentation du transfert d'électron thermodynamiquement possible à l'état excité du BODIPY

Le transfert d'atome

Une fois excitée, la molécule possède une configuration électronique différente de l'état fondamental. Sa réactivité est alors changée, des réactions nouvelles peuvent alors se produire : réactions radicalaires et nucléophiles. Dans notre situation, le transfert d'atome entre le BODIPY et le complexe métallique ne peut pas se réaliser puisque la distance est trop longue ($> 17 \text{ \AA}$) et la structure des complexes est sous forme « étalée ». De même, en vue des atomes sur l'entité BODIPY, une réaction chimique avec les atomes du complexe ne peut pas être envisageable.

Pour conclure, seul le transfert d'électron lente photo-induit ($Ru^{II} \rightarrow Ru^I$, qui est le plus favorable) explique l'inhibition du rendement quantique d'une manière raisonnable.

Les théranostiques sont des molécules reliant une partie imagerie et une partie thérapeutique. La partie imagerie de nos complexes a été mise en évidence par des études de photophysique. Les résultats de la partie thérapeutique sont montrés par la suite par des études de cytotoxicité et microscopie confocale.

IV. TESTS BIOLOGIQUES

IV.1 Analyses de cytotoxicité

Le principal risque quand un théranostique est conçu est la perte des propriétés cytotoxiques de l'agent thérapeutique. Des tests permettant d'évaluer les propriétés cytotoxiques des composés **58**, **54**, **67** et **68** ont donc été réalisés sur une lignée cellulaire du cancer des ovaires humain (carcinome ovarien humain) sensible au cisplatine et une résistante : A2780S et A2780cisR respectivement.

La cytotoxicité est exprimée en valeurs IC_{50} qui correspond à la concentration de l'agent actif nécessaire pour provoquer une mortalité de 50% d'une population de cellules cancéreuses. Plus cette valeur est faible, plus le composé étudié est actif.

L'analyse des résultats montre clairement l'influence du métal sur la cytotoxicité. En effet, à part dans le cas du dérivé de l'osmium sur les cellules A2780S, les valeurs d' IC_{50} des complexes sont beaucoup plus basses que celle du ligand. Tous les composés ont des propriétés cytotoxiques modérées par rapport au cisplatine. Le composé le plus actif est le dérivé de l'or **68**, la valeur de

l' IC_{50} étant de 32 μM pour la lignée cellulaire A2780S et de 37 μM pour la lignée cellulaire A2780cisR.

Néanmoins, il faut noter que les dérivés du ruthénium comme le RAPTA C ne présentent pas une importante cytotoxicité *in vitro*. Le fait que nos composés aient une IC_{50} inférieure d'un facteur dix au RAPTA C aurait tendance à indiquer un certain effet de synergie venant de la combinaison du ligand et du métal et laisserait penser que les théranostiques pénètrent dans la cellule sans dégradation majeure.

Composés	IC_{50} (A2780S) (μM)	IC_{50} (A2780cisR) (μM)
Bod-PPh ₂ 58	> 150	> 150
Bod-Ru 54	50 \pm 12	49 \pm 15
Bod-Os 67	141 \pm 11	67 \pm 12
Bod-Au 68	32 \pm 16	37 \pm 10
Cisplatine	2,5 \pm 0,9	40 \pm 7,0
RAPTA-C ³⁰¹	> 300	> 300

Figure 119 : Comparaison des valeurs d' IC_{50} de **58**, **54**, **67** et **68** avec celles du cisplatine et du RAPTA-C après 72 h d'incubation sur une lignée cellulaire du carcinome ovarien humain sensible (A2780S) et résistant au cisplatine (A2780cisR).

Maintenant, il reste à évaluer les propriétés de nos complexes *in vivo*. En effet, les composés en vue comme le RAPTA C et le NAMI-A, malgré leur faible activité *in vitro*, présentent une bonne activité antimétastatique *in vivo*. C'est pour cette raison que le complexe de ruthénium (II) NAMI-A (Figure 120) est actuellement en phase clinique II.³⁰²

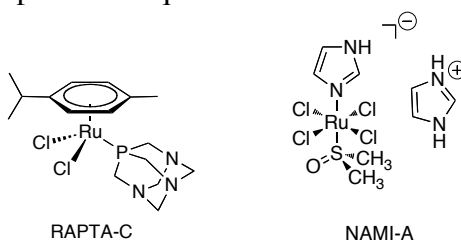


Figure 120 : Structures du RAPTA-C et du NAMI-A.

IV.2 Propriétés fluorescentes dans les cellules par microscopie confocale

LA MICROSCOPIE CONFOCALE

Le principe du microscope confocal a été décrit par Marvin Minsky en 1953, mais ce n'est que dans la fin des années 1980 que des modèles commerciaux sont apparus.

En microscopie à fluorescence classique, un des problèmes majeurs est une perte de résolution de l'image due à l'excitation des fluochromes se situant hors du plan focal. En effet, les fluochromes sont excités par le laser sur toute l'épaisseur de l'objet observé, ce qui se traduit par une image contaminée par un bruit de fond. L'objectif de la microscopie confocale est d'éliminer la lumière provenant des plans défocalisés (Figure 121).

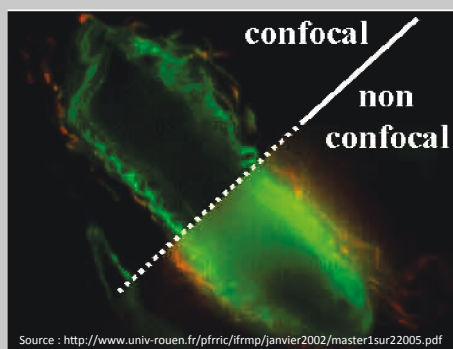


Figure 121 : Comparaison de la résolution d'une image obtenue par microscopies à fluorescence classique et confocale.

L'excitation des fluochromes se fait par un laser. Les lasers les plus couramment utilisés sont les lasers argon/krypton (488 nm et 568 nm) et hélium néon (633 nm). L'échantillon marqué par des fluochromes va être balayé par le laser point par point suivant l'axe des X et l'axe des Y grâce à des miroirs. Une platine motorisée déplace l'échantillon suivant l'axe Z, permettant ainsi la saisie de différents plans optiques dans l'épaisseur de l'objet. La fluorescence est ré-émise dans les trois dimensions et dans les différents plans. Un « pinhole » (ou diaphragme variable) est présent à l'entrée du photodétecteur pour ne récupérer que les photons provenant du point illuminé. Il arrête donc tout signal ne provenant pas du plan focal. Les photons de fluorescence vont être captés par le photodétecteur pour être amplifiés et transformés en signal électrique dont l'intensité est proportionnelle au nombre de photons reçus. Ce signal électrique va ensuite être numérisé (Figure 122).

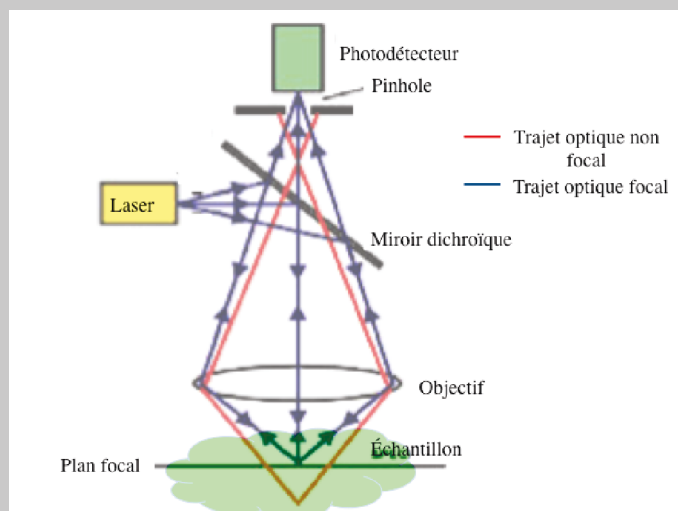


Figure 122 : Principe d'un microscope confocal.

La microscopie confocale possède de nombreux avantages par rapport à la microscopie conventionnelle. Tout d'abord, la faible profondeur du champ du microscope permet d'obtenir une image d'un plan focal (coupe optique) avec une définition bien supérieure au microscope conventionnel. Il en résulte une très bonne sensibilité de détection, une augmentation du contraste et une « clarification » des images. De plus, des coupes optiques peuvent être obtenues non seulement dans le plan XY mais également suivant un plan parallèle à l'axe optique (plan XZ) qui peuvent faire l'objet de reconstructions tridimensionnelles.

IV.3 Analyse des résultats

La détection du ligand BODIPY phosphine **58** et de ses complexes BODIPY ruthénium **54**, BODIPY osmium **67**, BODIPY or **68** a été effectuée dans les cellules vivantes par microscopie à fluorescence. Les produits ont été incubés avec des cellules ovariennes humaines sensibles au cisplatine A2780S durant 2 h à 37 °C et ensuite visualisés par microscopie à fluorescence confocale (Figure 123).

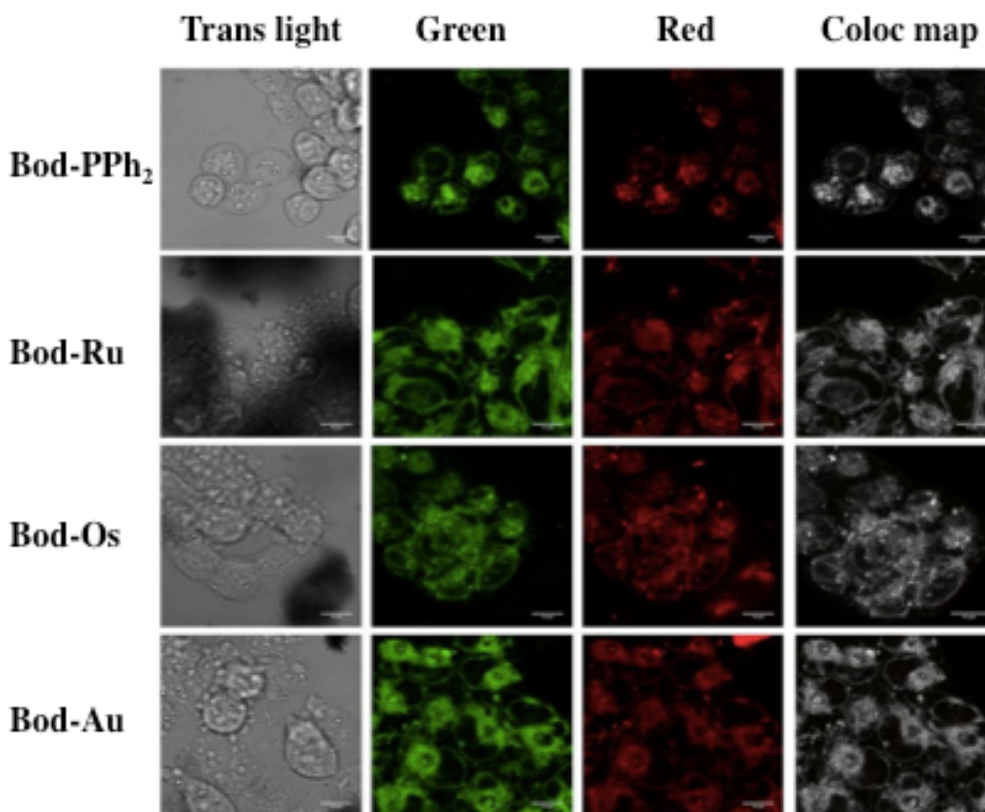


Figure 123 : Images par microscopie confocale des cellules A2780S incubées 2 h à 37 °C des produits **58, **54**, **67** et **68**. Les photos montrent des cellules en lumière transmise (Trans light), avec un filtre vert (exc 488 nm, émission 520 nm), avec un filtre rouge (exc 515 nm, émission 550 nm) et par superposition des deux images (Coloc map).³⁰³**

L'imagerie *in vitro* de **58**, **54**, **67** et **68** montre qu'ils entrent dans la cellule et se fixent préférentiellement aux membranes biologiques. Il est intéressant de noter que les complexes n'entrent pas dans le noyau et restent dans le cytoplasme. Cette observation est en accord avec les études cellulaires sur des fluorophores à base de BODIPY.³⁰⁴ Par ailleurs, aucune différence n'a été notée entre le ligand BODIPY phosphine **58** et ses dérivés métalliques, ce qui implique que les propriétés d'absorption et de distribution des composés sont principalement déterminées par le motif BODIPY.

De plus, une coloration et des propriétés de fluorescence semblables sont également observées lorsque les cellules sont incubées à 4 °C. À cette température il est communément admis que les mécanismes de transport actif sont inhibés. Cela signifie que le transport de la molécule est essentiellement passif.^{305,306}

LE TRANSPORT ACTIF ET PASSIF

La membrane cellulaire présente une perméabilité variable d'un type de cellule à l'autre. L'eau, les gaz et certaines molécules peuvent traverser facilement la membrane. D'autres molécules polaires ou les ions ont besoin d'un médiateur pour franchir la barrière lipidique. Le transport de toute molécule polaire à travers la bicouche nécessite soit la présence de pores ou de canaux soit l'existence de source d'énergie. Il existe ainsi deux types de transport : actif ou passif. Dans le cas du transport passif ou diffusion, la molécule peut traverser la membrane par une diffusion simple ou par une diffusion facilitée par le biais d'une protéine transmembranaire (ou transporteur) ou par des canaux ioniques disposant de pores pour laisser spécifiquement entrer une espèce d'ions. Tandis que dans le transport actif, il s'agit d'un transport contre un gradient de concentration. Il est donc obligatoirement lié à une source d'énergie. La source d'énergie peut être l'ATP (Figure 124).

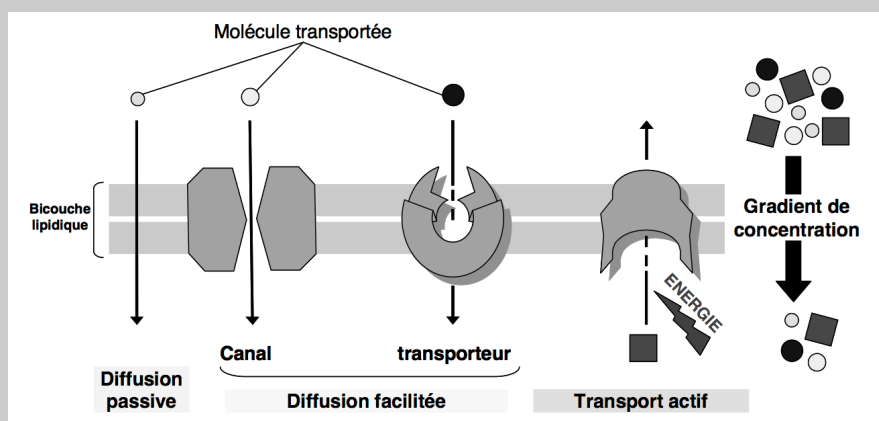


Figure 124 : Représentation schématique du transport passif qui se fait dans le sens d'un gradient électrochimique et du transport actif qui se fait dans le sens contraire du gradient électrochimique et nécessite de l'énergie.³⁰⁷

Il convient également de noter qu'un second signal de fluorescence décalé vers le rouge (550 nm) a été observé. Ce résultat inattendu n'est pas sans précédent puisque dans la littérature,³⁰⁸ des résultats sur différents BODIPYs ont montré que sur des concentrations locales élevées, deux fluorophores peuvent s'empiler (effet de « π -stacking ») et former un dimère avec un changement marqué de fluorescence.

Les images obtenues ont été réalisées avec des solutions de **58**, **54**, **67** et **68** à la même concentration que pour les mesures d'IC₅₀, ce qui signifie que la fluorescence est compatible avec les valeurs d'IC₅₀. Ce point est essentiel puisqu'il valide le concept de théranostique pour nos molécules.

IV.4 Études de stabilité des complexes

Lorsque des complexes organométalliques sont étudiés *in vitro* ou *in vivo*, il est essentiel de connaître leur stabilité dans le milieu considéré. Les précédents tests ne permettent pas d'avoir une certitude sur ce point. En effet, les tests de cytotoxicité laissent penser que les produits sont stables mais l'imagerie de fluorescence *in vitro* donne les mêmes résultats pour les ligands et les complexes.

Afin d'évaluer la stabilité des complexes organométalliques **54**, **67** et **68** dans le DMSO et l'eau, des suivis par spectrométrie d'absorption et d'émission UV-visible ont été réalisées (Figure 125 et Figure 126). Après 24 h dans du DMSO, aucun changement significatif n'a été détecté dans les spectres d'absorption et d'émission.

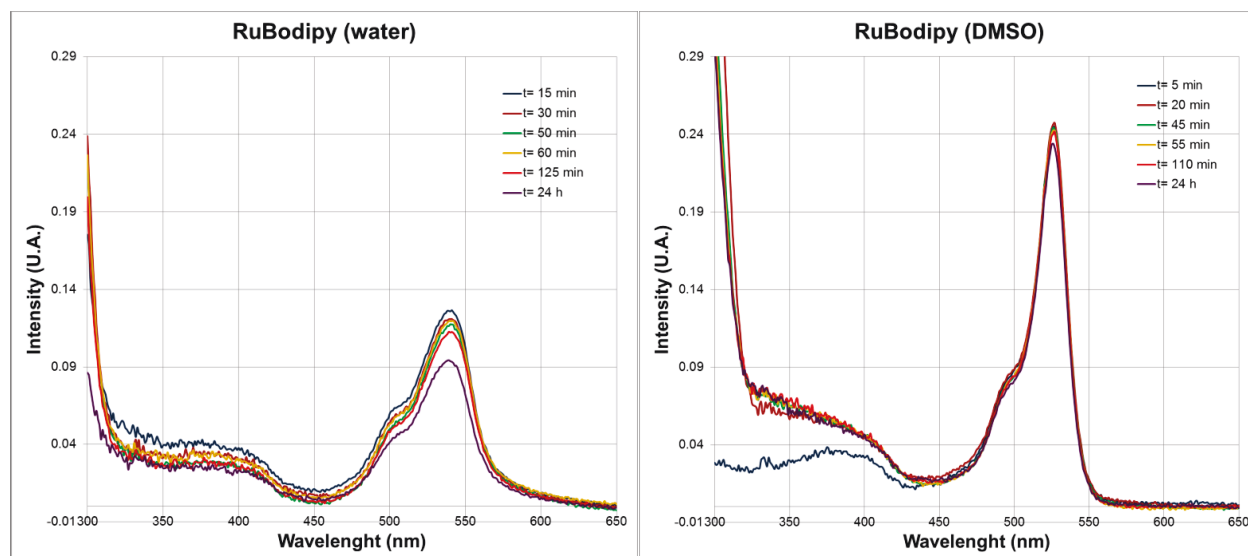


Figure 125 : Suivis par spectrométrie d'absorption UV-visible durant 24 h dans l'eau et le DMSO du composé 54 à 5 μ M.

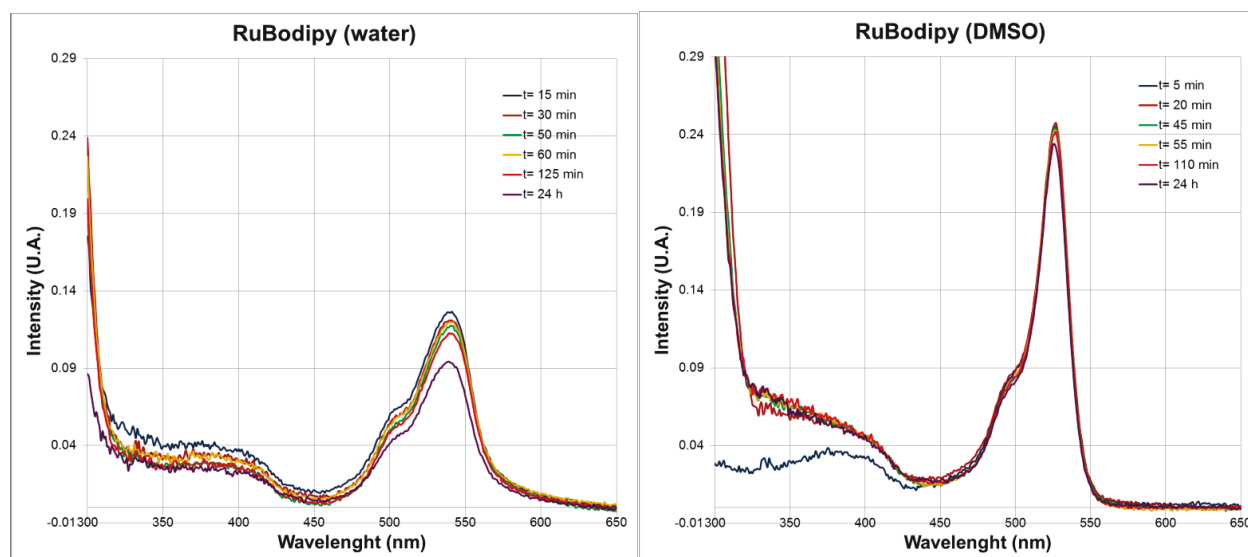


Figure 126 : Suivis par spectrométrie d'émission durant 24 h dans l'eau et le DMSO du composé 54 à 5 μ M.

Dans un tampon phosphate salin (PBS (*phosphate buffered saline*), pH = 7,4), le spectre UV-visible des trois espèces a montré des stabilités différentes étant donné qu'un changement au fur et à mesure du temps a été observé, probablement dû à des processus d'agrégation. Les spectres d'absorption présentent une forte bande d'absorption caractéristique des BODIPYs dans la gamme de 500-600 nm. Dans les conditions physiologiques, le complexe d'Au^I est le complexe le plus stable. Son spectre d'absorption est resté inchangé pour 12 h d'incubation. À l'inverse, les complexes d'Os^{II} et de Ru^{II} affichent une baisse du signal après 9 h seulement. Dans les mêmes conditions, le spectre du BODIPY libre est resté inchangé pendant 24 h.

Cette étude ne permet pas d'avoir des résultats suffisamment convaincants : les variations sont-elles dues à une instabilité des composés ou à un problème d'agrégation. Nous avons donc décidé de réaliser des études RMN ^1H et ^{31}P afin d'évaluer le comportement de la partie organométallique dans un milieu de culture cellulaire : RPMI 1640 + 10% de sérum de veau foetal et des antibiotiques (le synthon BODIPY est connu pour être stable en milieu biologique). La solubilité dans l'eau de nos composés est suffisante pour les expériences de cytotoxicité mais trop faible pour la sensibilité de la RMN. Pour surmonter ce problème, un composé modèle **53** a été synthétisé suivant un protocole analogue de **54** (Figure 127). Le dérivé du ruthénium a été choisi parce qu'il est souvent décrit comme plus sensible que l'or ou l'osmium. Il a été dissout dans un mélange d'un milieu de culture cellulaire/DMSO/D $_2$ O (5 : 4 : 1). Des analyses RMN ^1H et ^{31}P ont été effectuées à 37 °C sur plusieurs jours (entre les acquisitions des spectres, l'échantillon a été maintenu à 37 °C afin de se placer au plus près des conditions de tests *in vitro*).

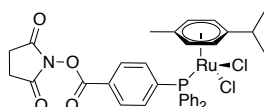


Figure 127 : Structure du composé modèle 53.

Les spectres RMN ^{31}P affichent deux signaux : l'un à $\delta = -0,9$ ppm qui peut être attribué aux phosphates contenus dans le milieu RPMI et l'autre à $\delta = 25,6$ ppm pour le phosphore du composé **53**. Après 10 jours, aucun changement n'a été remarqué (Figure 128). En ce qui concerne les spectres RMN ^1H , ils affichent la même tendance (Figure 129). L'analyse reste qualitative à cause du bruit apporté par les signaux des «solvants». Néanmoins, les deux doublets correspondant aux protons aromatiques du *p*-cymène à $\delta = 5,3$ ppm sont clairement visibles, ce qui signifie que le ruthénium reste coordonné à la phosphine. Aucun changement visible n'a été observé non plus au bout de 10 jours.

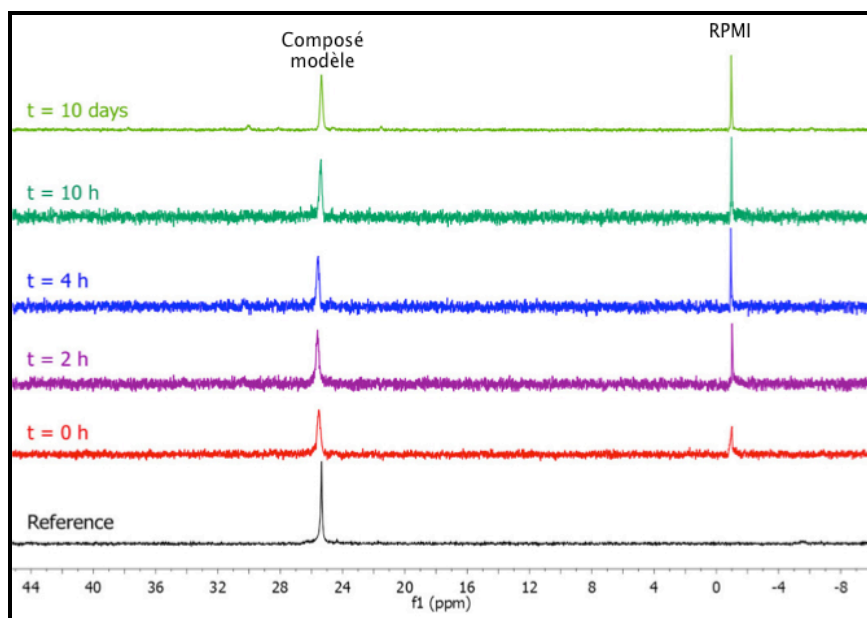


Figure 128 : Étude de stabilité de 53 par analyse RMN ^{31}P à 37 °C dans un mélange d'un milieu de culture cellulaire/DMSO/D $_2$ O (5 : 4 : 1). La référence a été enregistrée dans le DMSO- d_6 .

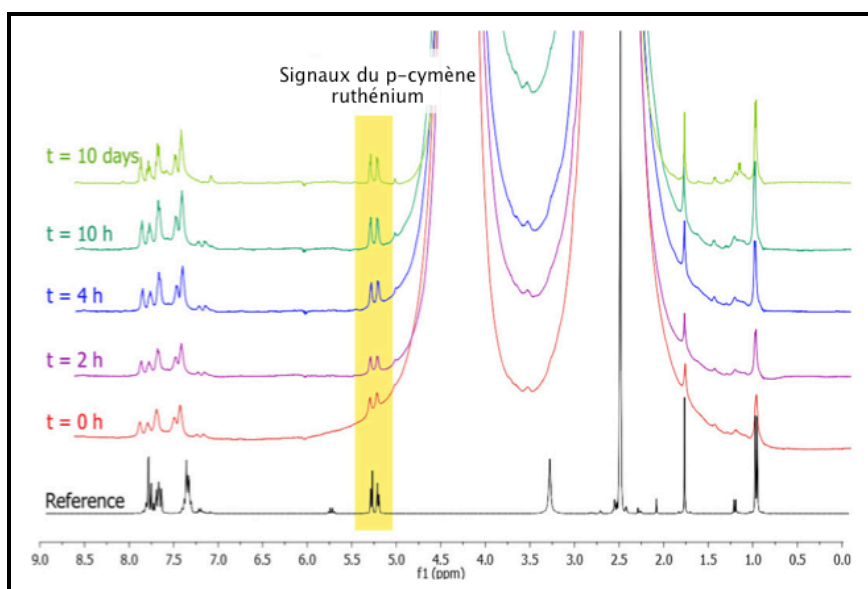


Figure 129 : Étude de stabilité de 53 par analyse RMN ^1H à 37 °C dans un mélange d'un milieu de culture cellulaire/DMSO/D $_2$ O (5 : 4 : 1). La référence a été enregistrée dans le DMSO- d_6 .

Des analyses par spectrométrie de masse ESI-MS ont été combinées aux études RMN ^1H et ^{31}P afin de confirmer les résultats. Les composés ont été stockés dans les mêmes conditions (à plus faible concentration) que pour les analyses RMN. Après dix jours, les spectres ESI-MS ont été enregistrés. Des spectres très semblables à ceux des composés de départ ont été observés pour les trois complexes. Quelques modifications des signaux ont été observées (même tendance pour les trois composés). Une augmentation nette du signal correspondant à la perte d'un chlorure $[\text{M}-\text{Cl}]^+$ est constatée (à $m/z = 1025,32990$ Da pour le complexe de ruthénium) et une faible pour la perte de deux chlorures $[\text{M}-2\text{Cl}-\text{H}]^+$ ($m/z = 989,35446$ Da) ainsi que pour l'adduit de potassium $[\text{M}+\text{K}]^+$ ($m/z = 1099,25925$ Da) (ionisation positive) (Figure 130). Ces résultats tentent à montrer que les complexes subissent l'échange d'un chlorure par une molécule d'eau par exemple.³⁰⁹⁻³¹¹

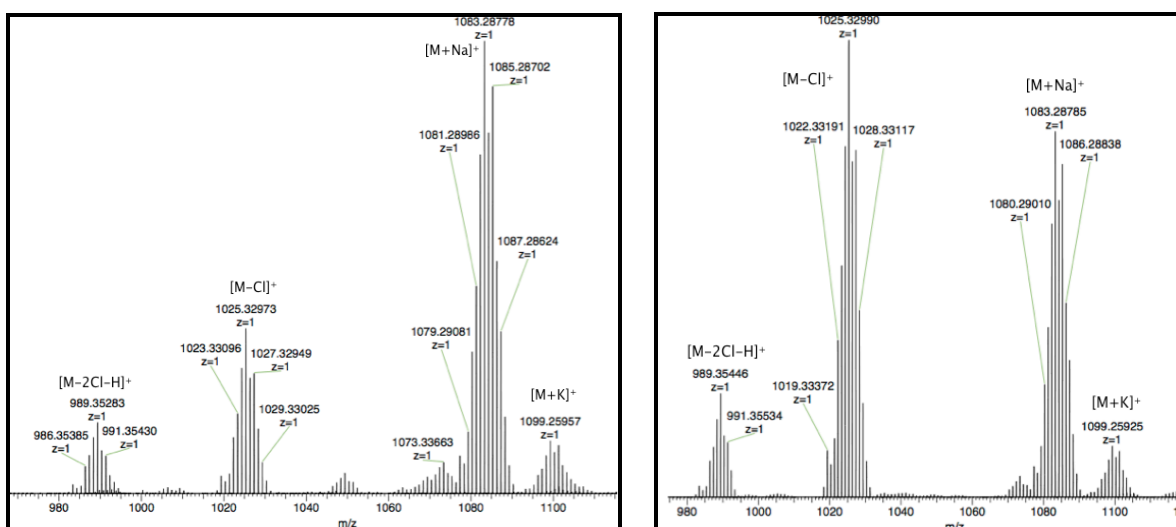


Figure 130 : Étude de stabilité par analyse de spectrométrie de masse ESI-MS pour le complexe de ruthénium 54 après 10 jours de stockage à 37 °C dans un mélange d'un milieu de culture cellulaire/DMSO/D $_2$ O (5 : 4 : 1). A gauche, spectre avant les études de stabilité. A droite, après les études.

Les résultats ont donc montré que ces composés demeurent stables en présence de milieu de culture cellulaire à 37 °C : RPMI 1640 + 10% de sérum de veau et des antibiotiques. La seule dégradation serait la perte d'un chlorure et elle n'a été observée qu'après plusieurs jours. Par conséquent, les

modifications des propriétés optiques après 9 ou 12 h ne sont pas dues à une dégradation des complexes mais plus probablement à des processus d'agrégation.

Même si cette étude n'a pas démontré sans ambiguïté que nos composés étaient encore intacts une fois entrés dans les cellules, elle a démontré leur très bonne stabilité dans ce type de milieu. Ces résultats sont très encourageants car ils montrent qu'en milieu biologique, le chromophore resterait lié à la partie thérapeutique.

Ces résultats prometteurs valident la preuve de notre concept de théranostiques. Nous avons donc décidé de passer à la deuxième étape de notre travail de recherche consistant à greffer une biomolécule vectrice afin d'obtenir un ciblage plus précis des cellules cancéreuses. L'idée de conjuguer ces systèmes à une biomolécule nécessite de les modifier par l'introduction d'une troisième fonctionnalité susceptible d'assurer le couplage avec un vecteur biologique.

V. ÉLABORATION D'UN SYSTÈME VECTORISABLE

V.1 Stratégies envisagées

Afin de greffer un vecteur sur le théranostique, un système trifonctionnel est nécessaire : une fonction pour le fluorophore, une pour la partie thérapeutique et une pour le vecteur. Nous avons envisagé trois approches pour la construction de ce système en nous concentrant sur un système compatible avec les stratégies de synthèse utilisées précédemment (Figure 131).

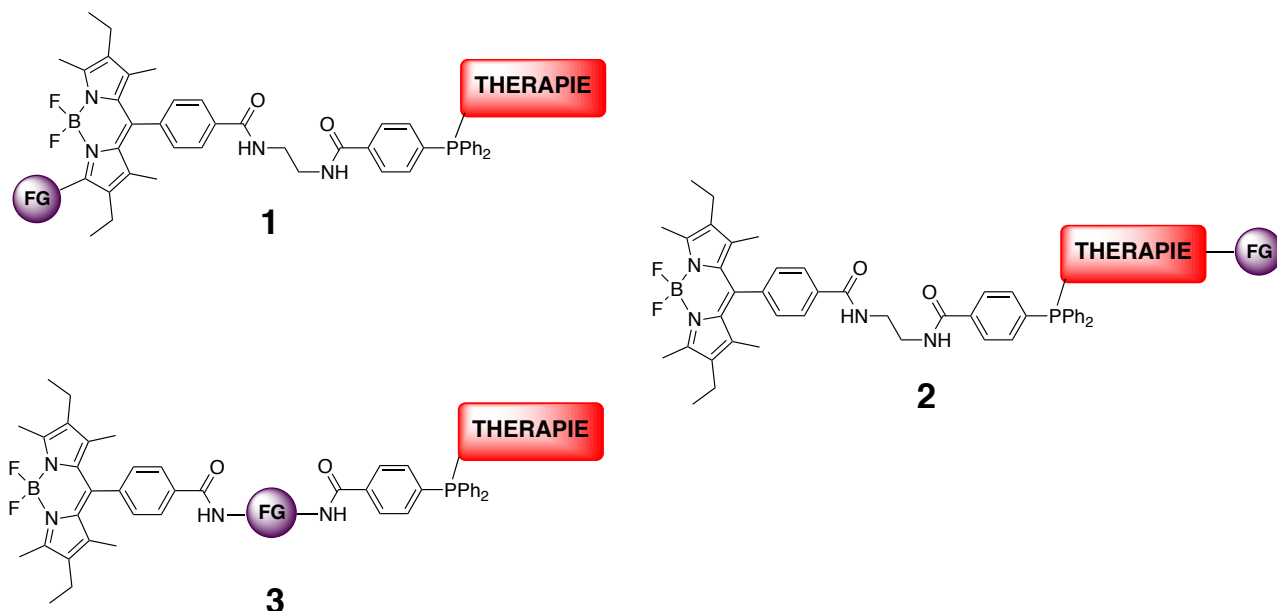


Figure 131 : Différentes voies de synthèses envisageables pour la construction d'un système trifonctionnel. Sur les molécules, FG définit la Fonction de Greffage.

La première approche consiste à introduire la fonction de greffage sur les pyrroles de l'unité BODIPY (voie 1 de la Figure 131). Une très large gamme de fonctionnalisation à cet endroit est décrite dans la littérature.^{282,312,313} Néanmoins, nous préférons conserver ces positions pyrroliques pour pouvoir à l'avenir étendre la conjugaison du noyau indacène et donc déplacer la longueur d'onde d'absorption et d'émission du fluorophore vers le proche IR.

La fonction de greffage peut également être introduite sur la partie à visée thérapeutique (voie 2). En effet, une fonctionnalisation au niveau du ligand arène des complexes arène-ruthénium et arène-osmium peut par exemple être envisagée.³¹⁴⁻³¹⁹ De même, il est également à priori possible de substituer le chlore du dérivé de l'or par un thiol. Cependant cette stratégie implique une introduction du vecteur au cas par cas, alors que dans un premier temps nous souhaitons développer une voie de synthèse assez générale.

La troisième voie de synthèse consiste à introduire la fonction de greffage et la partie thérapeutique *via* un espaceur adapté. Cette stratégie de synthèse nous semble préférable car la modification de l'espaceur ne devrait pas changer fondamentalement la stratégie de synthèse des théranostiques. De plus, le fait que le vecteur ne soit porté ni par le BODIPY ni par la partie à visée thérapeutique devrait limiter les risques de modifications de leurs propriétés.

V.2 Synthèses du système trifonctionnel

V.2.1 Choix de l'espaceur

La fonction de greffage et la partie thérapeutique seront introduites par *meso*-fonctionnalisation du BODIPY. Nous avons à notre disposition le précurseur BODIPY portant une fonction acide benzoïque **50** en position *meso*. Comme nous l'avons précédemment montré, un couplage peptidique avec une fonction amine est facilement réalisable. Afin d'introduire les trois fonctions, nous avons décidé d'utiliser un acide aminé. La partie thérapeutique sera couplée sur la fonction acide, une fois activée, en suivant la même stratégie qu'utilisée pour les théranostiques de « première génération ». La fonction de greffage pour le vecteur sera apportée par la chaîne latérale de l'acide aminé.

Le choix de l'espaceur s'est porté vers un dérivé de la nitrophénylalanine (S) (Figure 132). Cependant, dans nos travaux, nous n'avons pas porté attention sur la chiralité de la molécule. Sur la suite de ce travail, la chiralité de la nitrophénylalanine ne sera donc pas présentée. Le groupement nitro pourra être réduit en amine et éventuellement transformé en isothiocyanate pour permettre la fixation du vecteur.

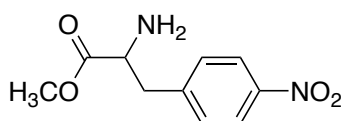


Figure 132 : Structure de l'ester méthylique de l'hydrochlorure de *p*-nitrophénylalanine.

Le système trifonctionnel envisagé comportera ainsi la partie imagerie (BODIPY), la partie thérapeutique (Ru, Os, Au) et la partie vectorisation (biomolécule) (Figure 133).

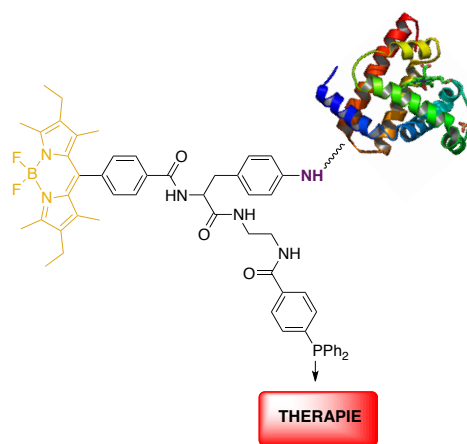
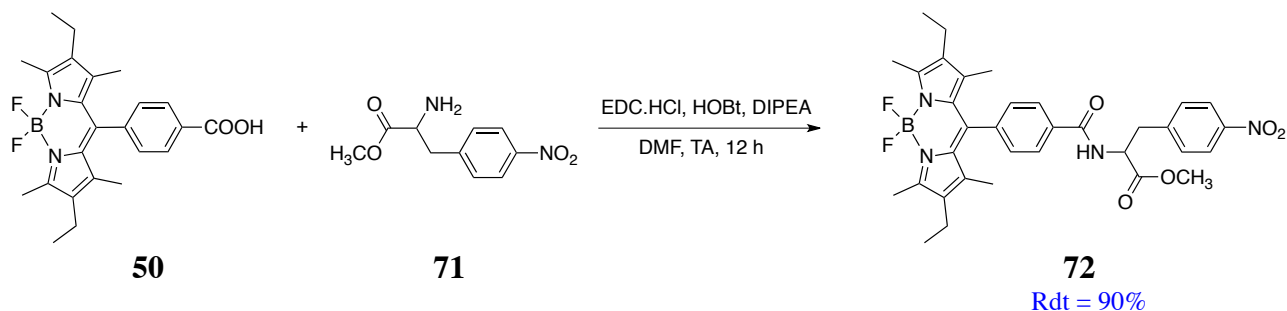


Figure 133 : Structure de la molécule visée.

V.2.2 Synthèse du ligand BODIPY phosphine

La première étape vers la construction du ligand désiré consiste au couplage peptidique entre le BODIPY acide **50** et la nitrophénylalanine. Pour le réaliser des agents de couplage tels que l'EDC.HCl et l'hydroxybenzotriazole ont été utilisés. Après 12 h de réaction à température ambiante la réaction est stoppée, traitée et purifiée par chromatographie sur colonne de silice (Schéma 45). Le composé **72** est isolé avec un rendement de 90%.

Schéma 45 : Synthèse du BODIPY-nitro-méthylester **72**.

La suite de la synthèse implique de choisir à quel moment faire la réduction du groupement nitro, plusieurs voies de synthèse ont été explorées.

V.2.2.1 Première voie envisagée

La première stratégie envisagée consiste à réduire le groupement nitro à la dernière étape, après couplage peptidique entre l'ester activé aryldiphénylphosphine **57** et le précurseur BODIPY éthylènediamine porteur d'une fonction amine primaire (Figure 134). Le but est d'éviter une compétition entre les groupements « NH₂ » lors de l'étape de couplage avec la phosphine.

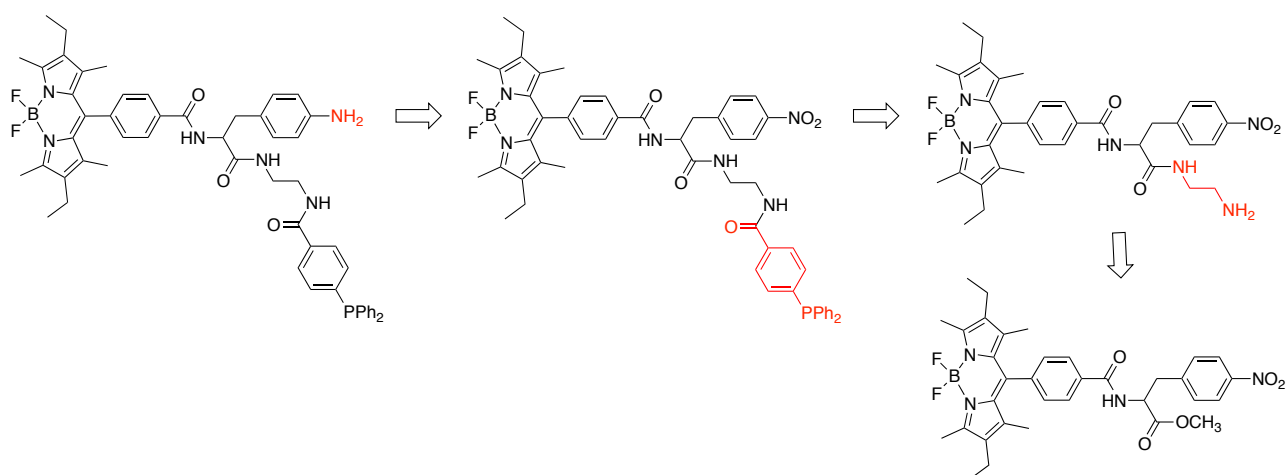


Figure 134 : Première stratégie envisagée.

La première étape a consisté à coupler de l'éthylène diamine sur la fonction ester méthylé dans le méthanol. Un rendement quantitatif est obtenu pour le composé **73**. Ensuite, l'ester activé aryldiphénylphosphine **57** est relié sur l'amine primaire du BODIPY **73** par couplage peptidique selon le mode opératoire utilisé lors de la synthèse du composé **58** (Schéma 46).

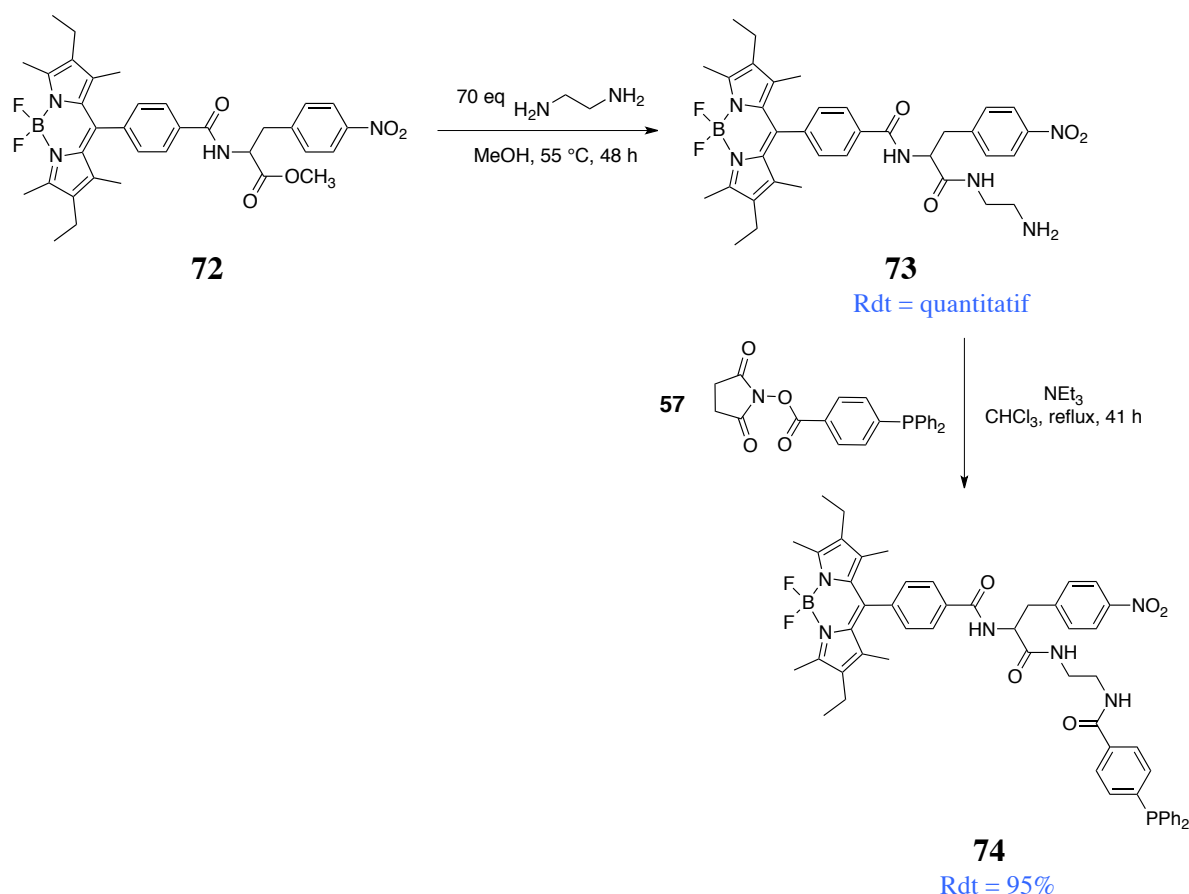


Schéma 46 : Synthèse du BODIPY-nitro-diphénylphosphine 74.

Le mélange réactionnel a été suivi par RMN ^{31}P no lock. Le déplacement chimique du phosphore du précurseur **72** se situe à $\delta = -5,8$ ppm et celui du produit **74** à $\delta = -6,9$ ppm. Cette petite différence de déplacement chimique permet donc de réaliser un suivi jusqu'à qu'il n'y ait plus d'évolution au niveau du ratio entre les deux singulets. Le ligand BODIPY phosphine **74** est purifié par filtration sur plug d'alumine et isolé avec un rendement de 95%. La purification est réalisée sur alumine car

la phosphine du ligand BODIPY **74** s'oxyde sur une colonne chromatographique de silice (même en réalisant la colonne sous atmosphère inerte et en utilisant des solvants distillés ou dégazés). L'utilisation d'alumine ainsi que de solvants dégazés a permis de contourner ce problème d'oxydation.

Le composé **74** a été caractérisé par spectroscopie de RMN ^1H dans le CDCl_3 à 300 K. Les principaux signaux ont été attribués en s'appuyant sur les spectres RMN ^1H des composés **72** et **73** également réalisés dans CDCl_3 (Figure 135). Le déplacement chimique du signal caractéristique des protons du CH_2 en α de l'amine primaire de **73** se situe entre $\delta = 2,74$ et $2,89$ ppm tandis que sur le composé **74**, il se situe entre $\delta = 3,23$ et $3,37$ ppm après couplage peptidique. La disparition des protons de l'amine à $\delta = 2,00$ ppm est une preuve de la réalisation de ce couplage. L'observation d'un proton supplémentaire correspondant au NH d'un amide confirme également la formation du composé **74**. Comme attendu, les substituants sur les unités pyrroliques du BODIPY sont très peu affectés par l'introduction de l'ester activé **57**.

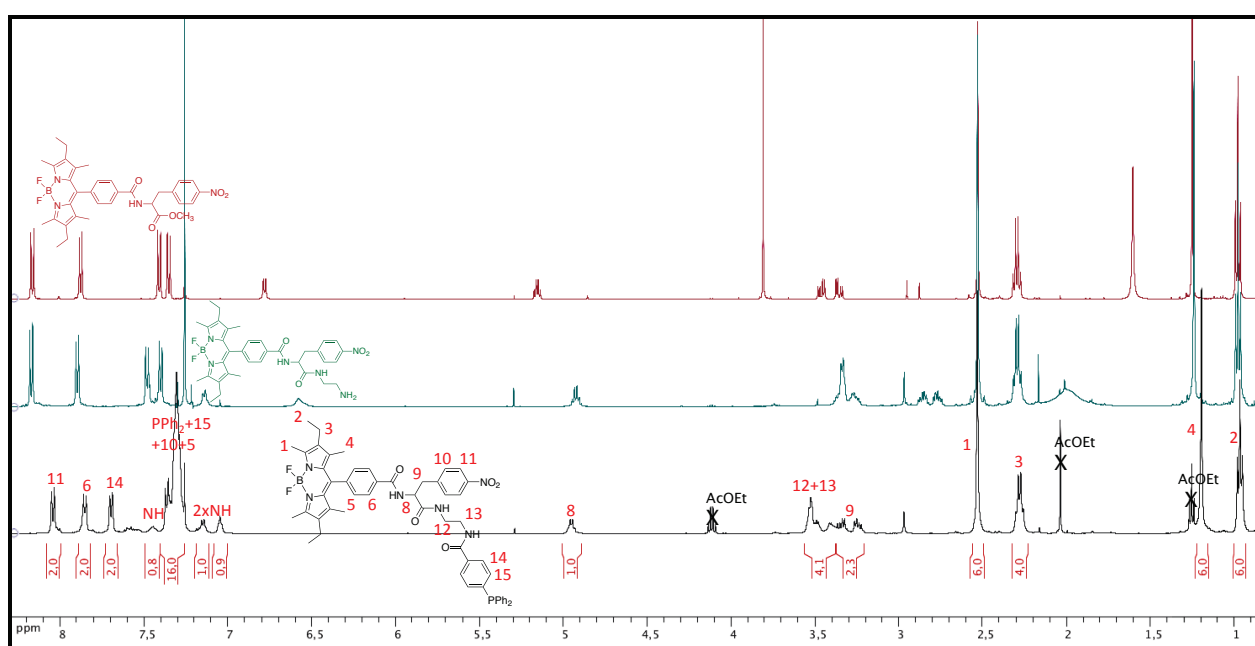


Figure 135 : Spectre RMN ^1H du composé **74** (500,13 MHz, CDCl_3 , 300 K).

L'étape suivante consiste à réduire la fonction nitro en fonction amine du composé **74**. La méthode classiquement utilisée est l'hydrogénation catalysée au palladium sur charbon activé. Différentes conditions réactionnelles (solvant, température, pression) ont été testées afin d'obtenir l'aniline correspondante. Cependant, aucun test réalisé n'a conduit à la réduction de la fonction nitro. Les analyses RMN ^1H dans CDCl_3 n'ont montré, dans le meilleur des cas, qu'une très faible formation de la fonction aniline. Une explication possible à cette faible réactivité est l'empoisonnement du catalyseur par la phosphine. De plus, les expériences réalisées au sein du laboratoire de Dr. Christine Goze à l'ICMUB ont montré que plus la taille du BODIPY est volumineuse, plus la réduction de cette fonction nitro est difficile. Nous avons donc décidé de procéder à la réduction du groupe nitro un peu plus tôt dans la synthèse.

V.2.2.2 Deuxième stratégie envisagée

La deuxième stratégie de synthèse consiste à réduire la fonction nitro après le couplage du dérivé de la nitrophénylalanine sur le BODIPY acide **50** (Figure 136) ou après l'ajout de l'éthylènediamine.

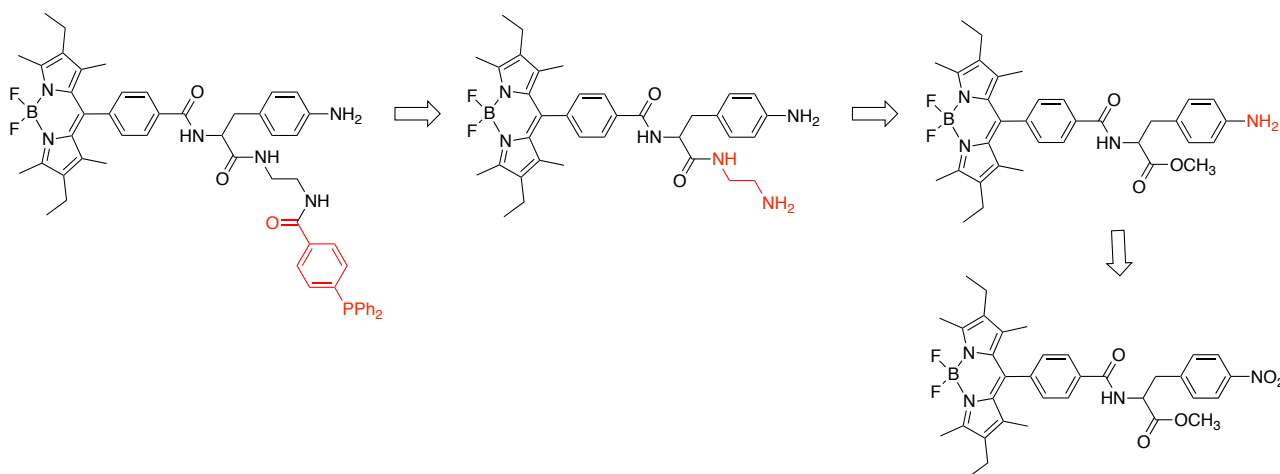


Figure 136 : Deuxième stratégie envisagée.

Les deux voies de synthèse ont été testées dans les mêmes conditions opératoires. L'hydrogénation catalysée au palladium sur charbon activé dans un mélange éthanol/dichlorométhane (1 : 1) sous pression atmosphérique nous a conduit aux composés **75** et **76** avec un rendement quantitatif et de 72% respectivement (Schéma 47).

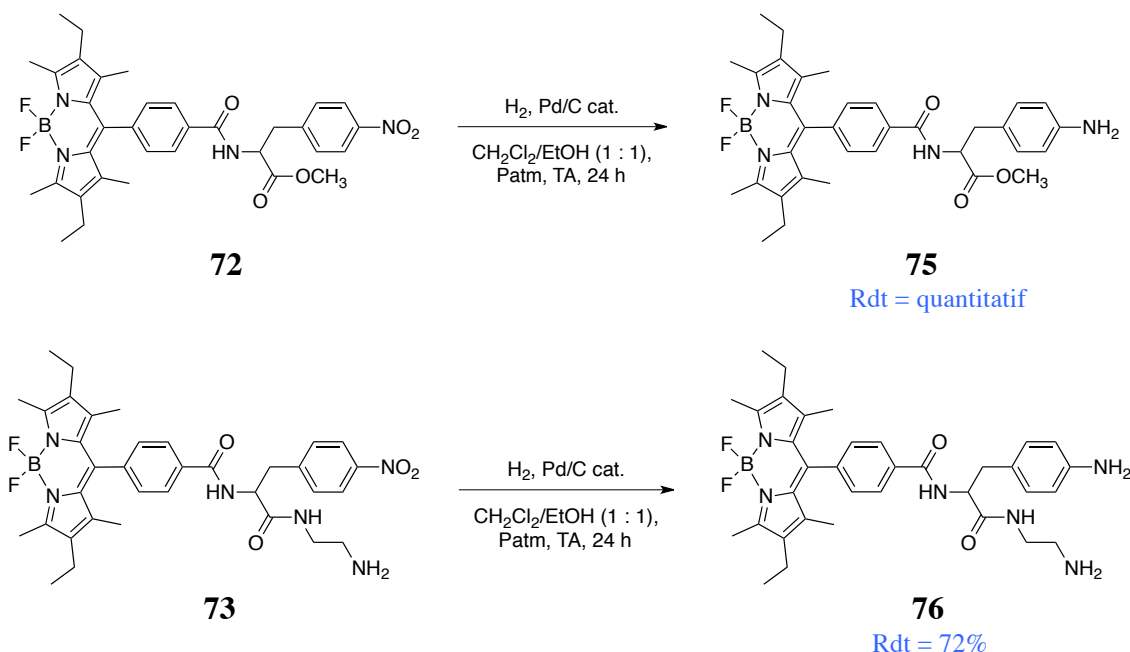


Schéma 47 : Réduction de la fonction nitro des composés **75** et **76**.

L'analyse RMN ^1H dans le CDCl_3 à 300 K a permis d'identifier le composé **75** par comparaison avec le spectre RMN ^1H du composé **72** (Figure 137). Le déplacement des doublets relatifs aux protons du nitrophényl passe de $\delta = 8,17$ à $6,63$ ppm et $\delta = 7,35$ à $6,94$ ppm après réduction de la fonction nitro en amine. Le déplacement et l'allure des doublets dédoublés correspondant au noyau d'hydrogène H_1 et H_1' du groupement CH_2 en β des deux amides sont également observés. Ces différences de déplacement chimique confirment la formation du composé **75**.

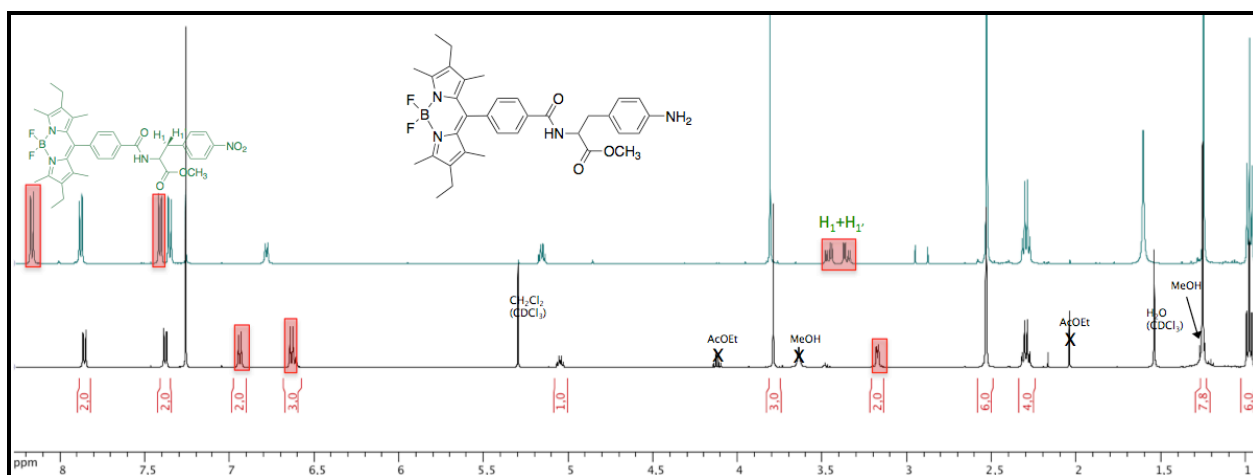


Figure 137 : Superposition des spectres RMN ^1H des composés **72** et **75** (500,13 MHz, CDCl_3 , 300 K).

La réduction du groupement NO_2 à partir de l'ester ayant conduit à un rendement quantitatif, cette voie de synthèse a été privilégiée.

L'étape suivante est le couplage de l'éthylène diamine sur la fonction ester méthylé de **75**. Un rendement quantitatif est obtenu pour le composé **76**. L'ester activé aryldiphénylphosphine **57** est greffé sur l'amine primaire du BODIPY **76** par couplage peptidique selon le mode opératoire de la synthèse du composé **58**. Dans le but de favoriser le couplage du précurseur phosphine **57** sur la fonction amine primaire du composé **76**, plus réactive que l'aniline, 0,9 équivalent de cette phosphine **57** a été utilisé (Schéma 48). Le ligand BODIPY phosphine **77** a été isolé avec un rendement de 96%.

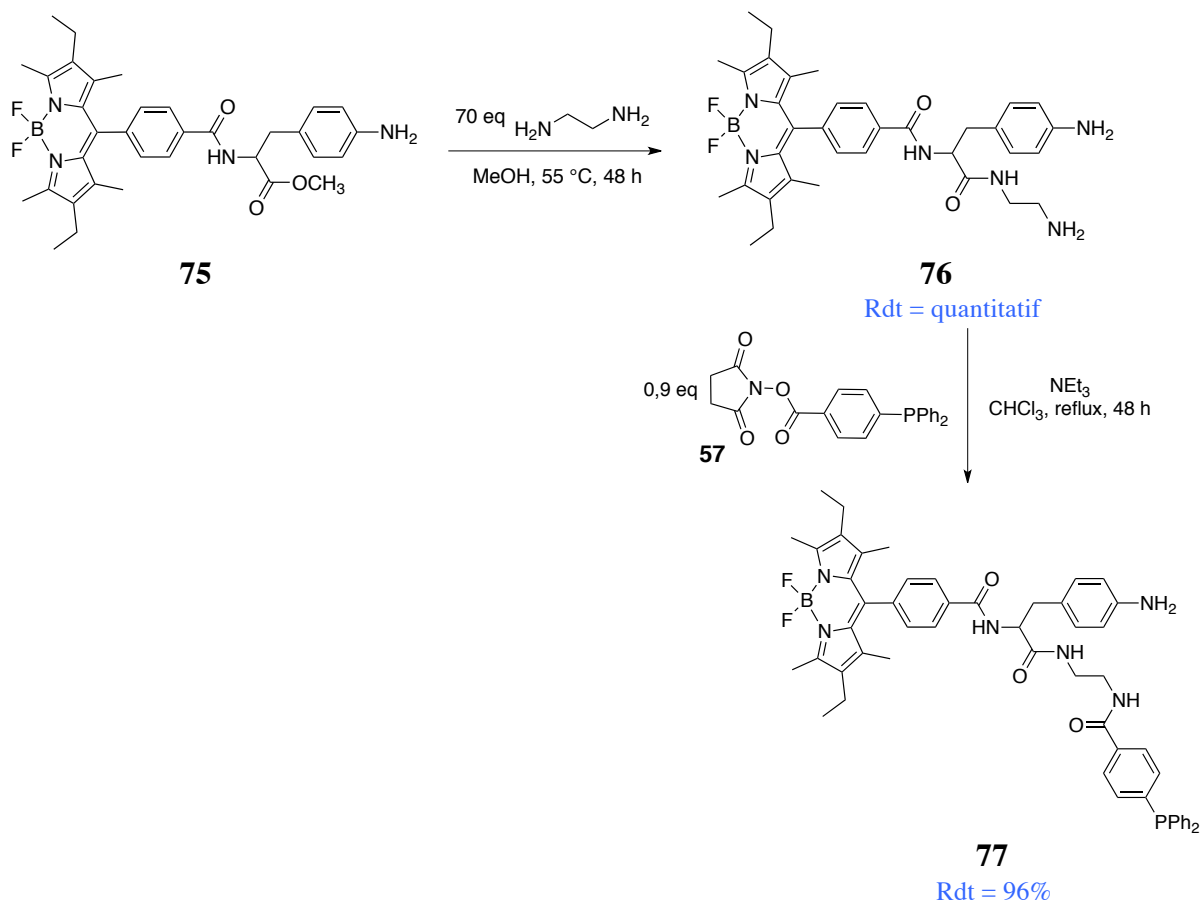


Schéma 48 : Synthèse du BODIPY-aniline-diphénylphosphine **77**.

L'analyse du spectre RMN ^{31}P du composé **77** présente un singulet à $\delta = -5,53$ ppm. Le pic d'oxydation de la phosphine aux environs de 30 ppm n'a pas été observé (Figure 138).

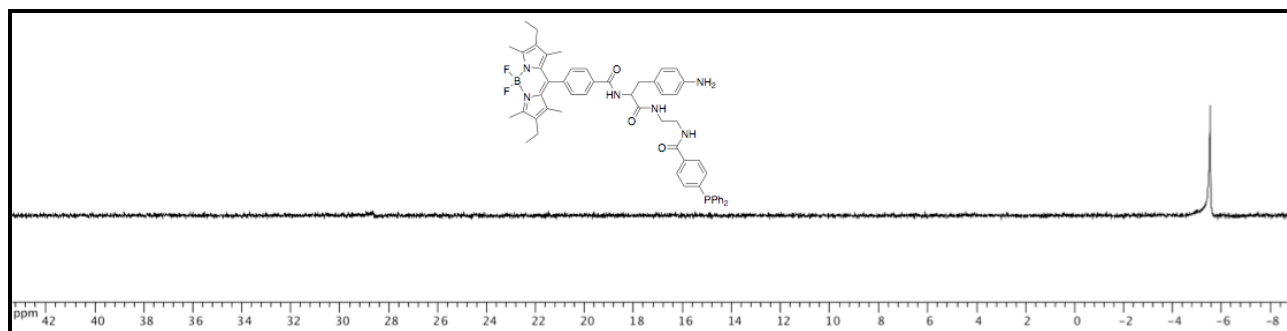


Figure 138 : Spectre RMN ^{31}P du composé **77** (500,13 MHz, CDCl_3 , 300 K).

V.2.2.3 Troisième stratégie envisagée

La troisième stratégie de synthèse a été réalisée parallèlement à la deuxième dans le but de comparer les deux voies de synthèses et d'établir les conditions opératoires les plus intéressantes en terme de rendement et de purification. Elle repose sur le couplage entre une aryldiphénylphosphine porteuse d'une fonction amine et le dérivé acide du produit **75** (Figure 139).

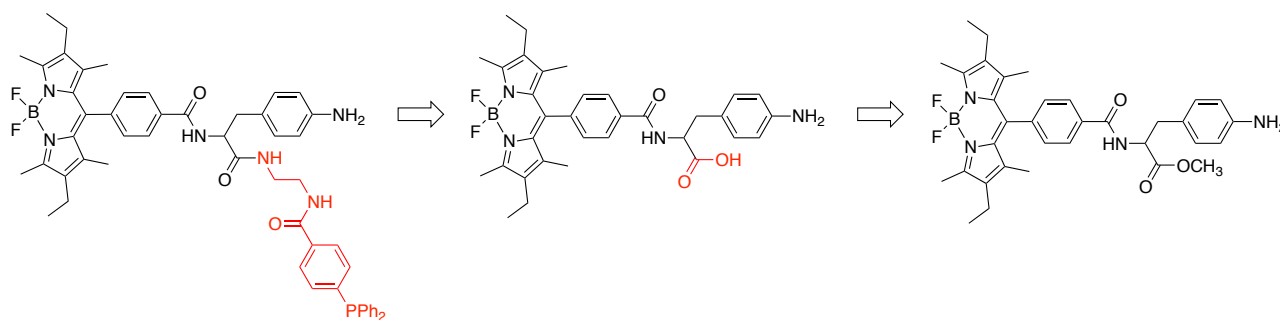


Figure 139 : Troisième stratégie envisagée.

Dans un premier temps, une réaction de saponification a été accomplie avec un rendement quantitatif (Schéma 49).

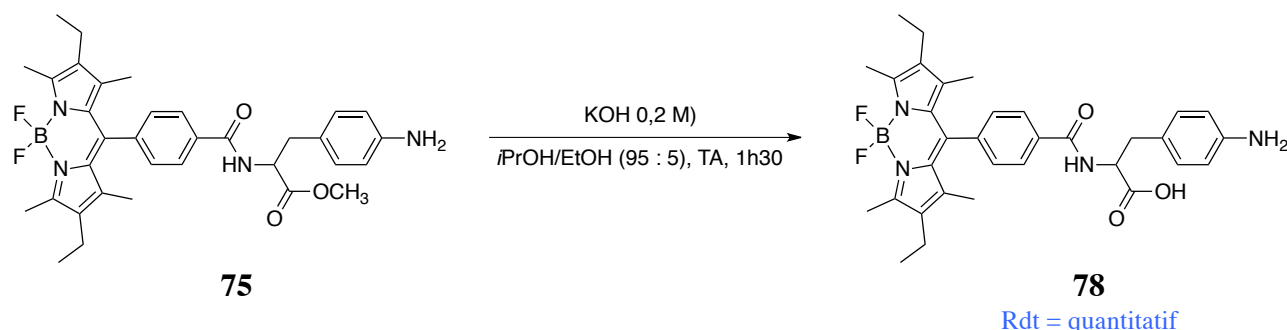
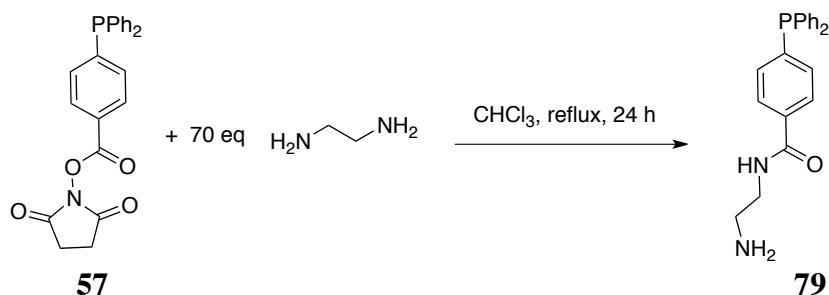


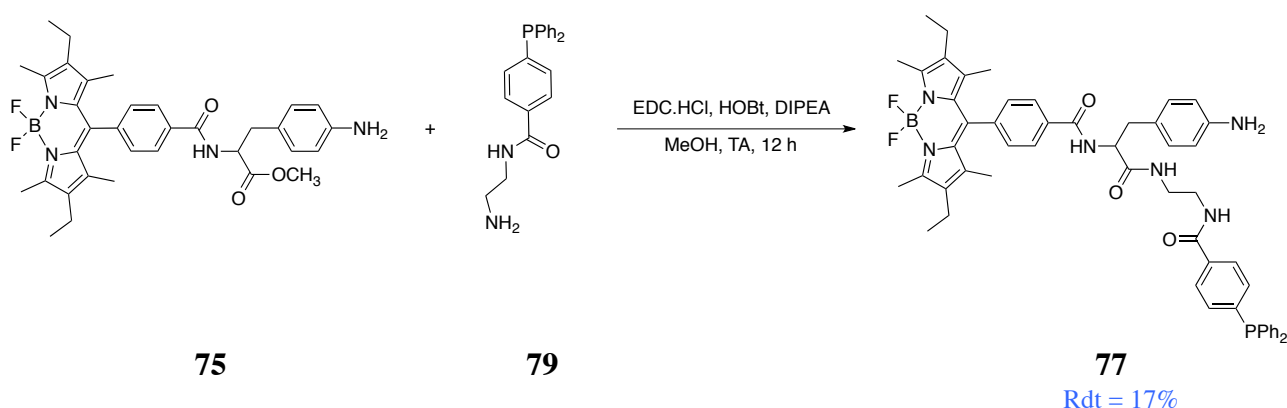
Schéma 49 : Synthèse du BODIPY-aniline-acide carboxylique **78**.

La phosphine porteuse d'une fonction amine primaire a été ensuite greffée sur la fonction acide du composé **78**. Cette phosphine a été préalablement synthétisée par ajout de l'éthylène diamine sur l'ester activé aryldiphénylphosphine **57** (Schéma 50).

Schéma 50 : Synthèse de l'amine aryldiphénylphosphine **79**.

L'analyse RMN ^{31}P réalisée dans le CD_3OD montre un pic à $\delta = -5,7$ ppm correspondant à la formation du produit **79** ainsi qu'un pic caractéristique de l'oxydation de la phosphine à $\delta = 27,3$ ppm. L'intégration de ces deux pics a permis d'évaluer le pourcentage du produit oxydé ($< 10\%$). Cette oxydation est due à l'utilisation d'un solvant réactionnel (MeOH) probablement mal dégazé. Ce pic a été effectivement observé lors du suivi réactionnel par RMN ^{31}P no lock.

Malgré la présence du produit d'oxydation de la phosphine, le composé **79** a été utilisé pour le greffage sur le BODIPY **78** porteur de la fonction acide dans le but d'évaluer l'efficacité du couplage. La fonction acide de **78** a été activée par l'ajout d'agents de couplage tels que l'EDC.HCl et l'HOBt dans le MeOH dégazé et en présence de DIPEA sous argon (Schéma 51). Le solvant réactionnel a été le méthanol car la phosphine **79** n'est soluble que dans les alcools, le DMF et le DMSO.

Schéma 51 : Synthèse du BODIPY-aniline- diphénylphosphine **77** à partir du composé **79**.

Après chauffage à reflux durant 4 jours, aucune évolution de l'intensité du pic correspondant à la formation du produit **77** n'est constatée. Bien que ce pic soit très peu intense, la réaction a été stoppée puis le brut réactionnel a été purifié sur une colonne chromatographique sur alumine (éluant dégazé : acétate d'éthyle/méthanol (9 : 1)). L'analyse RMN ^{31}P indique la présence de 14% d'oxydation de la phosphine. Il a été impossible de séparer le ligand phosphine et sa forme oxydée. Le composé **77** a été « isolé » avec un rendement de 17%.

Cette stratégie de synthèse a été abandonnée au vue des résultats obtenus (rendement et pureté du ligand). La deuxième méthode a été retenue pour la synthèse du système trifonctionnel comprenant ainsi l'unité BODIPY, la phosphine et l'amine de l'aniline.

V.2.3 Complexation aux dérivés organométalliques

Les complexes bimétalliques sont préparés à partir des dimères de ruthénium et d'osmium (**61** et **63**), et du complexe d'or (**66**), métaux utilisés dans le paragraphe II.3.2.

Le ligand BODIPY phosphine (**77**) préalablement synthétisé a donc été mis en réaction avec les précurseurs dimériques [(*p*-cymène)RuCl₂]₂ **61** et [(*p*-cymène)OsCl₂]₂ **63** (Schéma 52). La simple évaporation du solvant nous a conduits aux complexes métalliques correspondants avec des rendements quantitatifs et de 93% respectivement.

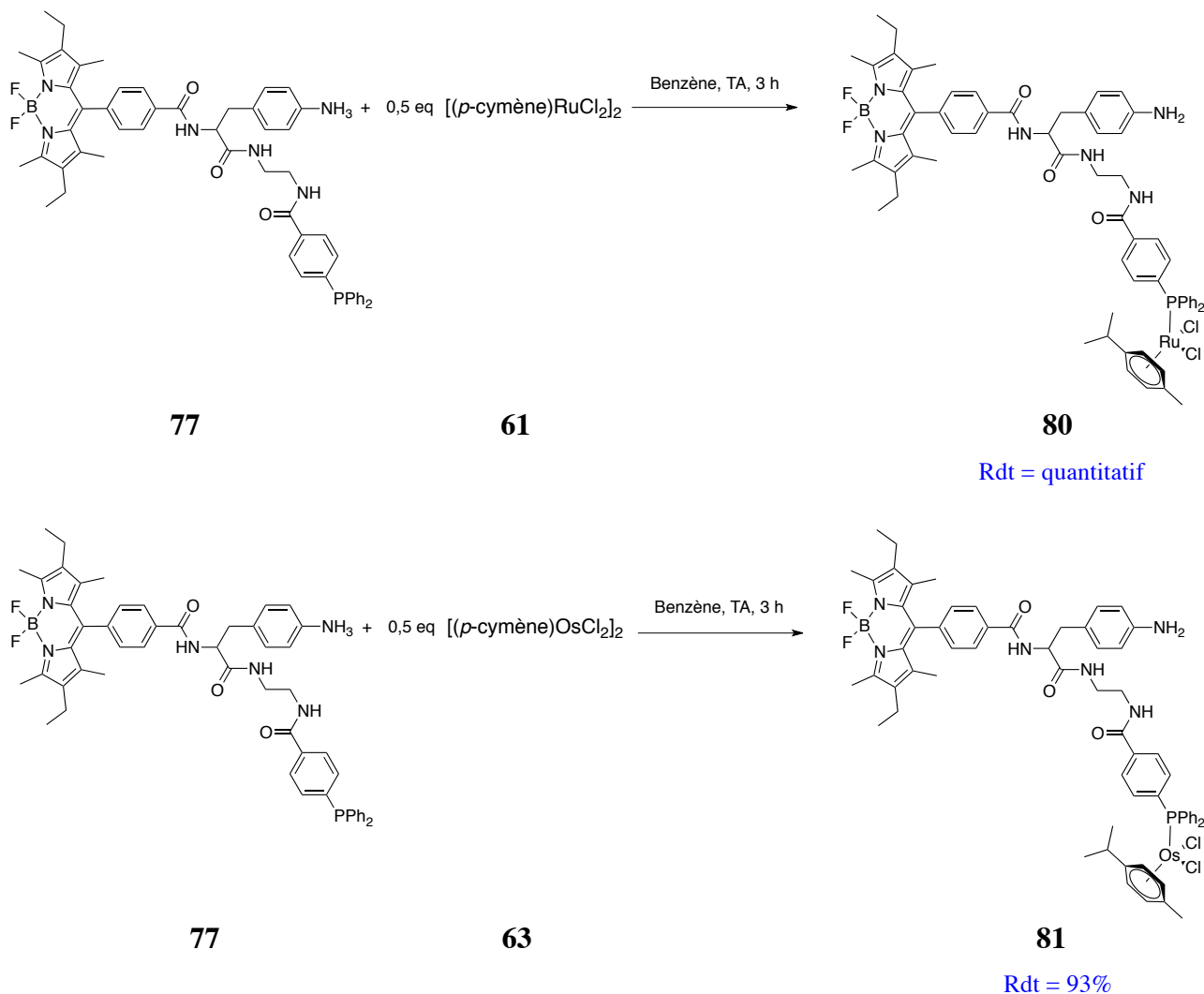


Schéma 52 : Synthèse des complexes BODIPY-aniline-ruthénium et osmium **80** et **81**.

La formation des composés a été mise en évidence par spectrométrie RMN ³¹P. Un changement significatif de la résonance a été observé entre le ligand libre (singulet à δ = - 5,5 ppm) et les complexes (singulet à δ = 25,3 ppm pour le dérivé du Ru et à δ = - 12,2 ppm pour celui de l'Os). Une superposition des spectres RMN ¹H du complexe et du précurseur dimérique a été réalisée dans le CD₂Cl₂ à 500,13 MHz (Figure 140). Ces analyses ont montré un déplacement des protons caractéristiques du *p*-cymène. De plus, cette superposition a permis de confirmer la pureté des complexes **80** et **81**.

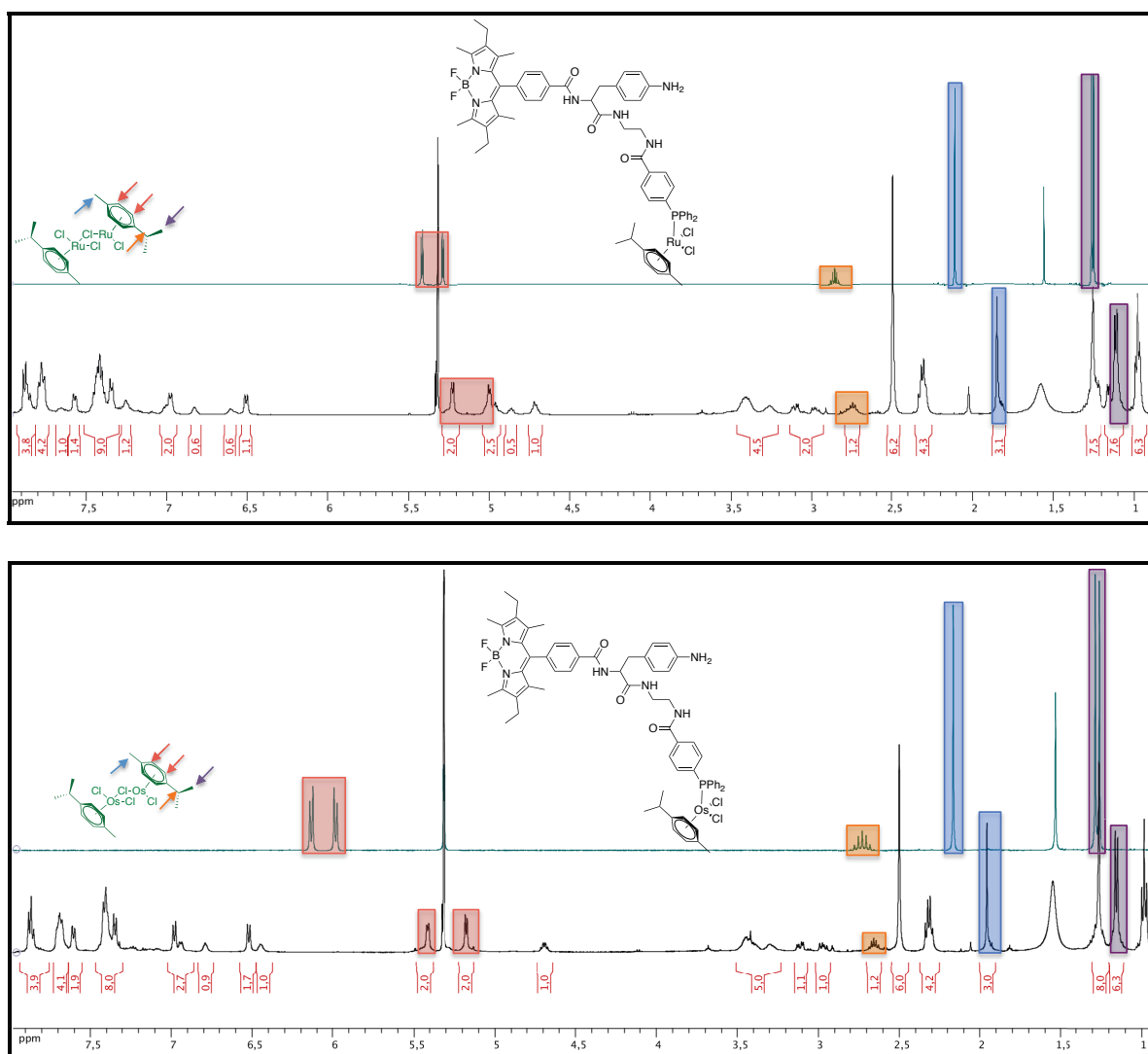


Figure 140 : Superposition des spectres RMN ^1H des précurseurs et de leurs complexes (500,13 MHz, CD_2Cl_2 , 300 K).

Le complexe d'or est synthétisé de la même manière que les complexes de ruthénium et d'osmium en faisant réagir le ligand phosphine (77) et le complexe d'or $[\text{Au}(\text{tht})\text{Cl}]$ 66 (Schéma 53). Après évaporation du solvant, un rendement quantitatif est obtenu.

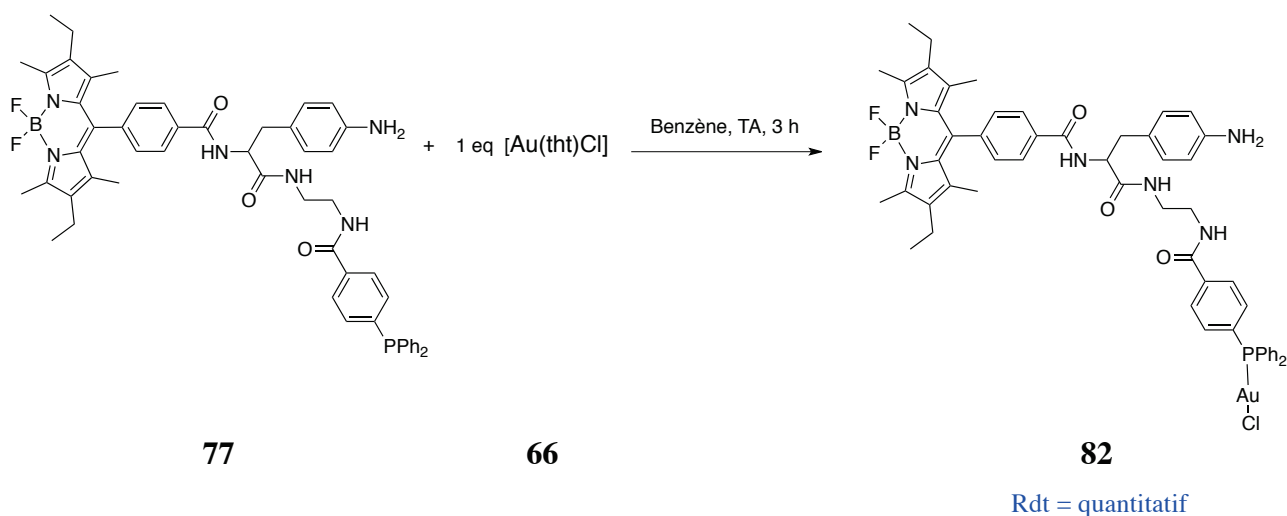


Schéma 53 : Synthèse du complexe BODIPY-or 82.

La formation du complexe **82** est mise en évidence par un déblindage du signal RMN ^{31}P de plus de 30 ppm (singulet à $\delta = 32,9$ ppm). Les spectres RMN ^1H et ^{31}P dans le CD_2Cl_2 montrent que le composé **82** est très propre. On note l'absence de toute trace du précurseur $[\text{Au}(\text{tth})\text{Cl}]$ **66** par l'absence des doublets caractéristiques du ligand tétrahydrothiophène (THT) à $\delta = 2,17$ et $3,41$ ppm (Figure 141).

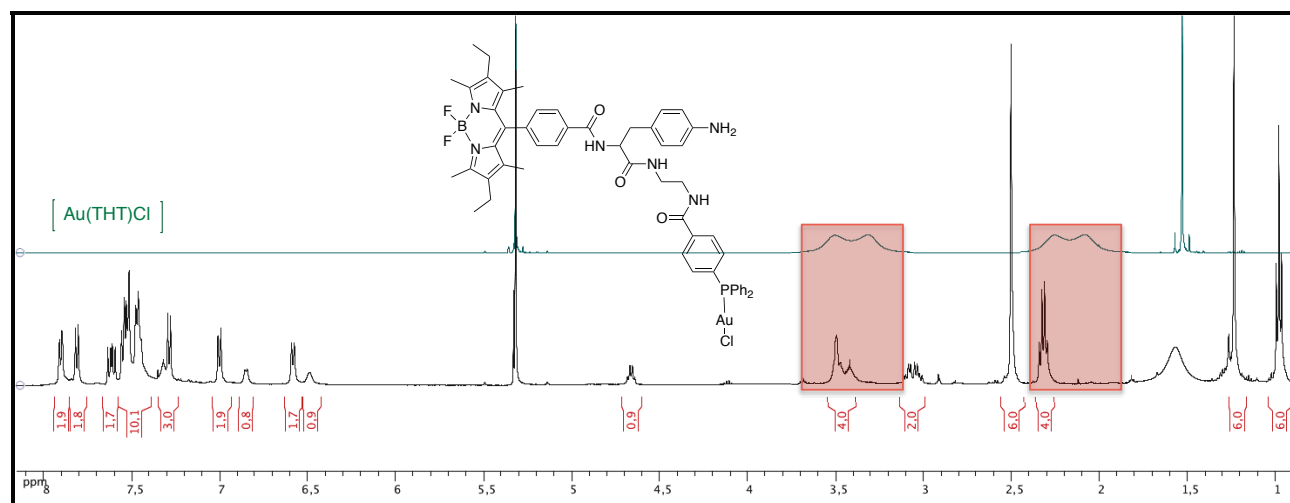


Figure 141 : Superposition des spectres RMN ^1H de $[\text{Au}(\text{THT})\text{Cl}]$ et du complexe **82** (500,13 MHz, CD_2Cl_2 , 300 K).

La synthèse du système trifonctionnel envisagé initialement a été optimisée avec un rendement global de 37-40% pour les 10 étapes, sachant que la synthèse du BODIPY acide **50** fait baisser ce rendement (sans les étapes de synthèse de **50**, un rendement global de 67-72% est obtenu pour 7 étapes).

V.3 Greffage sur des biomolécules

V.3.1 Choix de la biomolécule

Il existe de multiples vecteurs utilisables. La biotine a été choisie pour les tests préliminaires (Figure 142). La biotine, ou vitamine B₈ (B₇ ou H) empêche la croissance des cellules cancéreuses. Sa sélectivité dans les tumeurs cancéreuses est nettement plus élevée que dans les tissus normaux. À la surface, les cellules cancéreuses surexpriment souvent des récepteurs spécifiques à la biotine.³²⁰ Récemment, plusieurs recherches ont montré que les macromolécules conjuguées à la biotine augmentent l'absorption des médicaments anticancéreux dans les cellules tumorales.³²¹⁻³²⁵ Ainsi, les interactions spécifiques entre la biotine et de ses récepteurs peuvent être exploitées pour cibler l'administration du médicament.

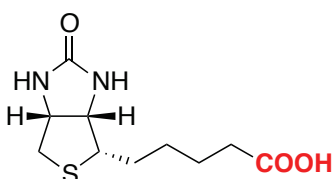


Figure 142 : Structure de la biotine.

De plus, la biotine peut aider à l'hydrosolubilisation de nos complexes et peut-être utilisée comme « point d'accroche » pour des protéines fonctionnalisées par de l'avidine (formation du complexe avidine/biotine régulièrement appelé « glue biologique »).

V.3.2 Greffage de la biomolécule

Afin de greffer la biotine sur la fonction amine de l'aniline du complexe de ruthénium **80**, la fonction acide de cette biotine a été activée par transformation de la fonction acide carboxylique en chlorure d'acyle (Schéma 54).³²⁶

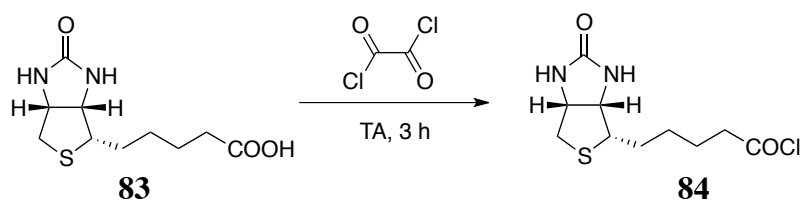


Schéma 54 : Synthèse de la biotine-chlorure d'acyle **84**.

Pour cela, la biotine acide est mise en solution dans le chlorure d'oxalyle distillé, sous argon, à température ambiante durant 3 h. Ce vecteur ainsi activé a été utilisé sans purification pour le greffage sur le système trifonctionnel (Schéma 55).

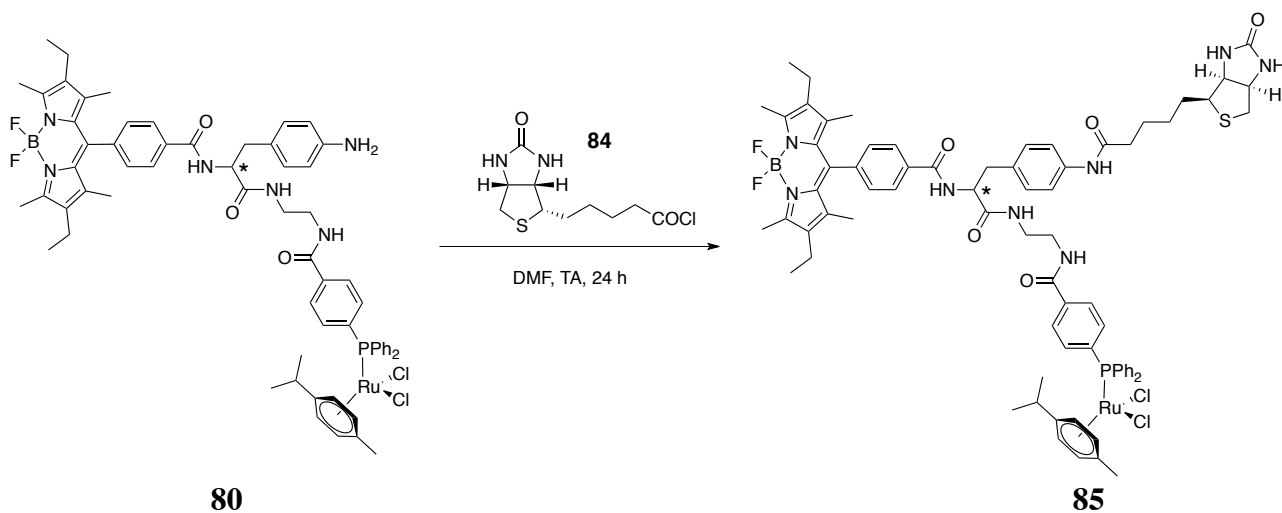


Schéma 55 : Synthèse du complexe de ruthénium vectorisé **85**.

La formation du composé attendu a été mise en évidence par spectrométrie de masse ESI. Plusieurs amas isotopiques relatifs au composé **85** ont été observés, notamment un amas à $m/z = 1467,51$ Da caractéristique de l'ion $[M-Cl+HCl+H_2O]^+$, à $m/z = 1449,50$ Da pour l'ion $[M+H]^+$, à $m/z = 1431,50$ Da pour l'ion $[M-Cl+H_2O]^+$, à $m/z = 1413,49$ Da pour l'ion $[M-Cl]^+$ et un amas à $m/z = 1395,52$ Da correspondant à l'ion $[M-2Cl+OH]^+$ (Figure 143).

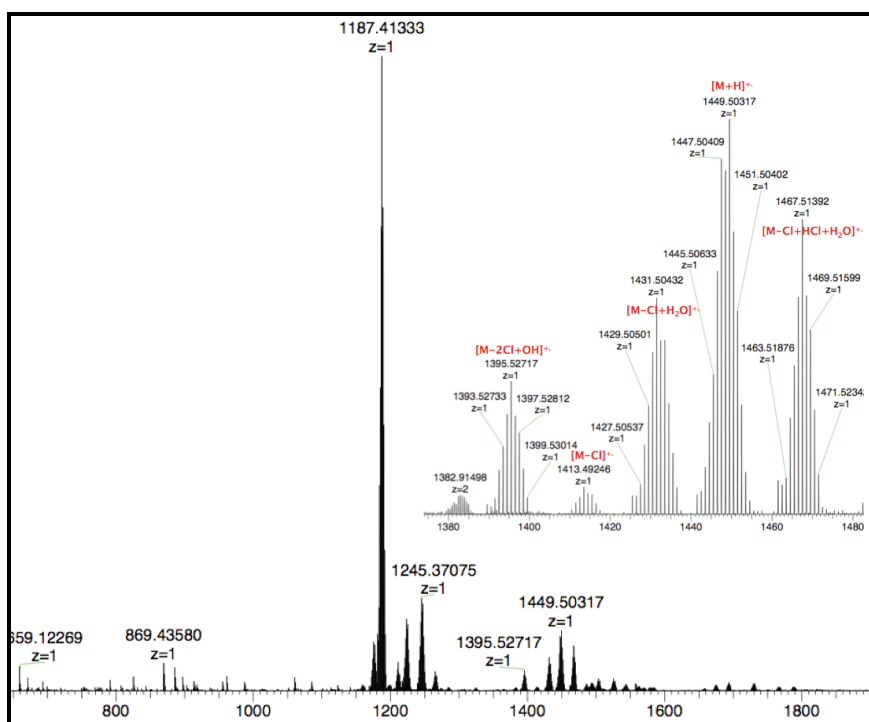


Figure 143 : Analyse par spectrométrie de masse ESI du composé 85.

Une analyse RMN ^1H dans le CD_2Cl_2 a été réalisée. Le spectre est difficile à interpréter de part la présence de pics très mal résolus. L'analyse a été effectuée dans le DMSO- d_6 et une légère amélioration est constatée. On peut remarquer la disparition des pics correspondant aux protons du *p*-cymène entre $\delta = 5,0$ et $5,5$ ppm.

Ces différentes analyses tendent à démontrer que la vectorisation du complexe **80** a été réalisée mais la détermination de la nature exacte du produit formé et de sa pureté est difficile à évaluer. Afin d'améliorer les conditions réactionnelles pour synthétiser le composé vectorisé et de l'identifier, plusieurs tests et voies de synthèse sont à effectuer. Ainsi, dans le même principe que les composés concepts, des études de cytotoxicité, de microscopie confocale et de photophysique pourront être accomplies.

VI. CONCLUSION

Nous avons synthétisé trois théranostiques composés par une entité BODIPY et des complexes organométalliques de Ru, Os et Au. Ils ont été obtenus avec de très bons rendements et sont synthétisables à l'échelle du gramme. Leurs propriétés spectroscopiques ont été déterminées et révèlent une faible inhibition de la fluorescence dans le cas des complexes de ruthénium et de l'osmium.

La preuve de concept « théranostique » a été validée *in vitro*. Les IC₅₀ correspondent généralement aux valeurs reportées dans la bibliographie pour ce type de complexe. L'activité des complexes n'a pas été altérée par la fonctionnalisation, elle semble même avoir été améliorée. Ils ont pu être imagés par fluorescence confocale à la concentration à laquelle ils sont actifs. Cela nous a permis d'obtenir plusieurs informations : les composés entrent dans la cellule avec une accumulation préférentielle dans les membranes cellulaires sans entrer dans les noyaux. En outre, l'absorption cellulaire ne semble pas être induite par un transport actif, et la « sélectivité » des théranostiques semble être déterminée par le motif BODIPY-phosphine. Cette dernière caractéristique pourrait être exploitée pour cibler des complexes métalliques ayant une affinité pour les protéines membranaires spécifiques et des enzymes. Il est intéressant de noter que ces composés à base de BODIPY montrent des tâches membranaires similaires aux colorants styryle amphiphiles FM4-64 et FM1-43, largement utilisés dans les études de microscopie du transport endomembranaire, et par conséquent, ils pourraient également être utilisés dans l'étude du transport membranaire ou du trouble du métabolisme des lipides dans les cellules.

D'un autre côté, afin de cibler spécifiquement les cellules tumorales, une fonction de greffage a été introduite sur l'espaceur. Des premiers tests de greffage ont été effectués et ont permis l'accès aux complexes BODIPY-phosphine-métal couplés à la biotine.

Ainsi, la suite de ce travail consiste à optimiser les molécules pour leurs applications *in vivo* (amélioration de la solubilité dans l'eau, modification des propriétés optiques pour réaliser des études de fluorescence dans le proche infrarouge...). Cela fait l'objet de la thèse de Pierre-Emmanuel Doulain.

Remarque :

En fin de doctorat, nous avons eu accès à un nouveau BODIPY **86**. En lieu et place de la fonction acide carboxylique, il possède un iode. De ce fait, il nous a paru intéressant d'essayer de coupler la phosphine directement sur cette position. Cela permettrait d'évaluer l'influence de l'espaceur sur les propriétés de la molécule et notamment de voir s'il peut y avoir une communication électronique entre le métal et le cœur BODIPY (Figure 144).

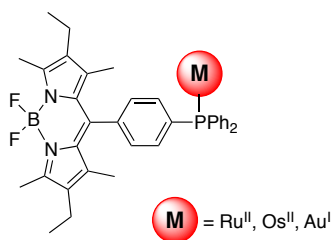


Figure 144 : Structure de la diphenylphosphine reliée directement sur le groupement phényle en position méso du BODIPY.

Afin de synthétiser ce complexe, le précurseur BODIPY 4-iodophényle *meso*-substitué **86** est utilisé. La réaction a été effectuée selon les conditions opératoires décrites par Kawashima *et al.*³²⁷ Cela consiste en l'ajout de butyllithium et de chlorodiphénylphosphine dans une solution de BODIPY (Schéma 56).

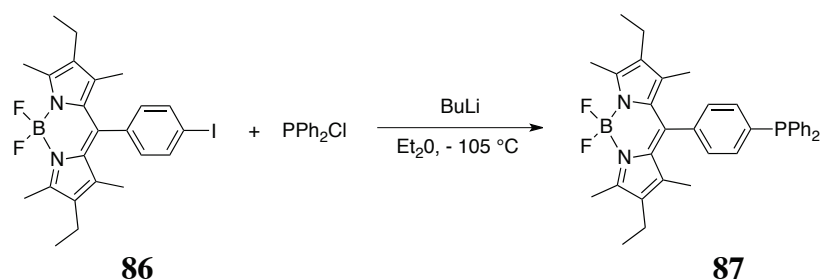


Schéma 56 : Synthèse du BODIPY-phosphine **87** à partir du dérivé iodé.

Un suivi RMN ^{31}P no lock a été effectué. Le spectre a montré un seul pic correspondant au produit formé. Effectivement, le pic du phosphore correspondant au précurseur chlorodiphénylphosphine se situe à $\delta = 82,3$ ppm tandis qu'après réaction, le pic est à $\delta = -16,3$ ppm (Figure 145). De plus, une analyse RMN ^1H dans le dichlorométhane deutéré a été effectuée. Le spectre a montré que la synthèse a bien été réalisée mais un excès de chlorodiphénylphosphine et de butyllithium a été observé. En effet, ne disposant que d'une petite quantité (quelques milligrammes) de BODIPY **86**, la stœchiométrie n'a pas été strictement respectée. Afin de purifier le produit **87**, une petite colonne sur silice est effectuée. Malgré l'utilisation de solvants dégazés, le composé **87** a été totalement oxydé. L'analyse RMN ^{31}P a montré un singulet à $\delta = 30,8$ ppm correspondant au produit oxydé (Figure 145).

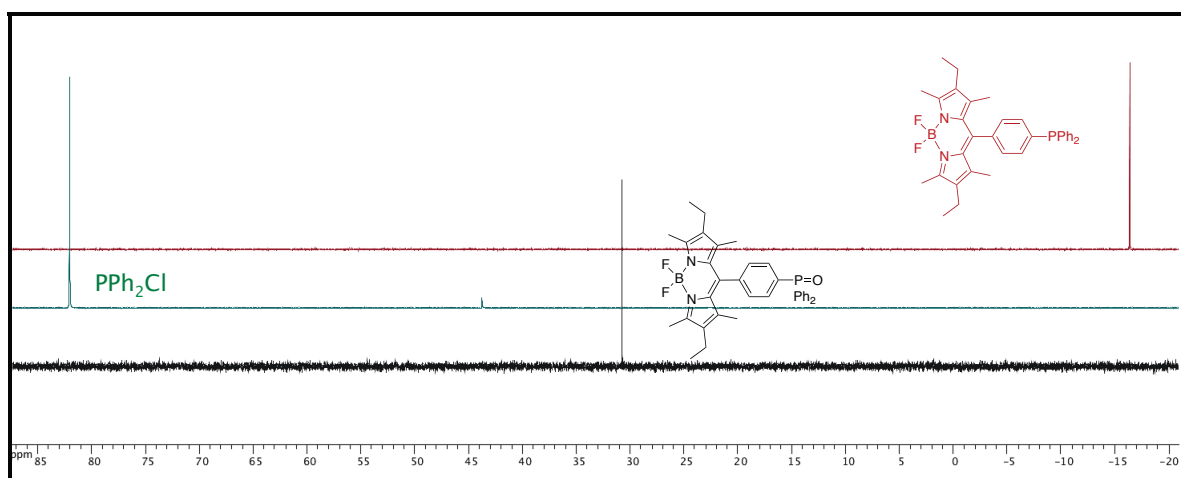


Figure 145 : Superposition des spectres RMN ^{31}P des composés **87**, chlorodiphénylphosphine et **87** oxydé (202,5 MHz, CD_2Cl_2 , 300 K).

Ce test préliminaire a montré qu'on pouvait obtenir le produit désiré. Le développement de cette piste a été confié à un nouveau doctorant. Pour contourner le problème rencontré, la synthèse du ligand phosphine devra être effectuée sur plus grande échelle.

CHAPITRE N°3 :

**SYNTHÈSES DE SYSTÈMES BIMÉTALLIQUES DE
PORPHYRINE PHOSPHINE**

I. INTRODUCTION (état de l'art)

Pour réaliser ce projet, nous nous sommes appuyés sur les résultats obtenus avec les dérivés de BODIPYs.³⁰³ Ces théranostiques ont démontré les aptitudes requises pour la thérapie et pour leur localisation *in vitro*. L'entité BODIPY permet d'effectuer de l'imagerie optique et récemment des dérivés [¹⁸F]-BODIPY rendent possible l'imagerie TEP. Les porphyrines sont utilisées comme traceur ou ligand dans de nombreuses techniques d'imagerie actuelle. Elles présentent des propriétés remarquables en tant que ligand de nombreux cations métalliques et elles sont beaucoup utilisées dans le domaine de la santé. Ainsi, de l'IRM (Fe, Gd, Mn), de la TEP (⁶⁴Cu, ⁶⁸Gd), de la TEMP (⁶⁷Ga, ¹¹¹In) et de l'imagerie optique (2H, Zn, Pd) peuvent être réalisées avec cette entité. Les dérivés porphyriniques sont aussi connus pour leur utilisation dans le domaine de la thérapie photodynamique (PDT).³²⁸⁻³³⁰

D'un point de vue stratégie, nous avons choisi d'utiliser, comme dans le cas du chapitre n°2, un ligand triarylphosphine pour coordiner le complexe organométallique utilisé comme agent thérapeutique (Figure 146). Les propriétés optiques de la porphyrine seront étudiées dans un premier temps pour valider le potentiel de cette sonde en imagerie.

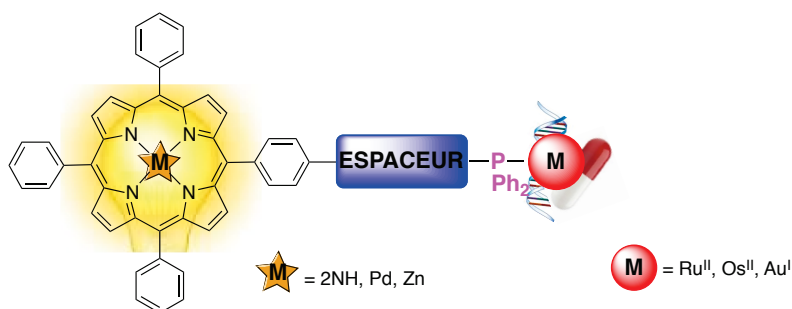


Figure 146 : Structure du système porphyrine-métal visée pour une utilisation comme agent théranostique.

Les deux principaux défis de synthèse de ce travail étaient de réussir à combiner le ligand porphyrine à la phosphine sans oxyder cette dernière et de coordiner de manière sélective le métal à visée thérapeutique à la phosphine sans qu'il entre dans la cavité porphyrinique. Le ligand porphyrine-phosphine est connu pour sa forte sensibilité à l'air.³³¹⁻³³³ Le ligand est souvent utilisé sous sa forme oxydée.^{333,334} Il est également protégé par sulfuration de la phosphine (P=S) pour éviter l'oxydation puis il est déprotégé à la dernière étape, avant la complexation à un métal (Figure 147).³³⁵⁻³³⁷ De même, pour éviter l'oxydation, la porphyrine-phosphine est protégée *in situ* par un groupement borane.³³⁸ Ces différents ligands complexés ou non sont pour la plupart utilisés dans des réactions de catalyse ou pour des études de structures, de propriétés optiques et photophysiques. L'obtention du ligand porphyrine-phosphine libre a été donc un réel défi.

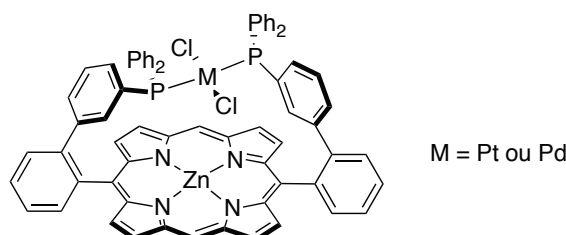


Figure 147 : Structure d'un complexe de porphyrine phosphine développé par Uemura.³³⁶

Une seconde stratégie a également été développée pour accéder à des théranostiques organométalliques. Elle consiste à greffer le fluorophore directement sur l'arène porté par le ruthénium et non *via* l'atome de phosphore. Cette stratégie devrait nous permettre de coordonner un ligand de type PTA sur le ruthénium et d'imager un analogue du RAPTA, développé par le groupe de Dyson (Figure 148).¹³²⁻¹³⁴

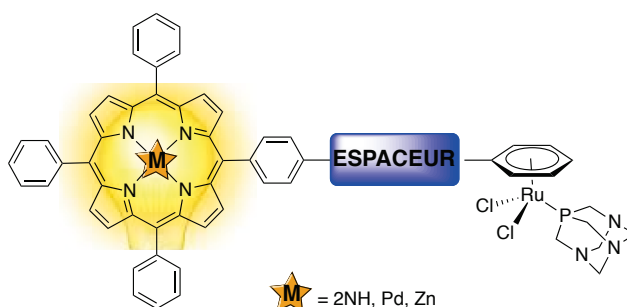


Figure 148 : Structure du complexe porphyrine-RAPTA visée.

II. SYNTHÈSES DU SYSTÈME PORPHYRINE-MÉTAL

II.1 Synthèse à partir de la porphyrine benzylamine

II.1.1 Stratégie de synthèse

Comme précisé précédemment, l'objet de ce chapitre est la synthèse de théranostiques porphyrine-phosphine-métal. La stratégie employée dans le chapitre précédent a donné de bons résultats. De plus, nous disposons de la phosphine-ester activé déjà synthétisée. La stratégie de synthèse débute donc par la synthèse d'une porphyrine portant une fonction amine qui pourra être couplée à cette phosphine. Afin d'obtenir une amine suffisamment réactive lors du couplage peptidique, nous avons opté pour la synthèse d'une porphyrine benzylamine (Figure 149).

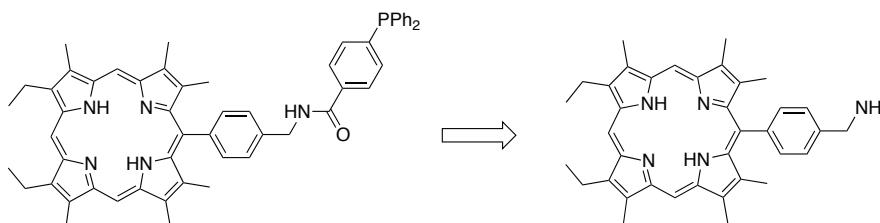


Figure 149 : Stratégie de rétrosynthèse du ligand porphyrine-triarylphosphine.

II.1.2 Synthèse du précurseur porphyrinique

II.1.2.1 Synthèse de l'*a,c*-biladiène

Parmi les différentes voies d'accès, la synthèse de porphyrines monofonctionnalisées en position *meso* par l'intermédiaire d'un *a,c*-biladiène **21** a été choisie. Ce choix repose sur la relative facilité

de purification (les produits secondaires de la réaction sont généralement des polymères pyrroliques et des corroles qui peuvent se former par cyclisation intramoléculaire).

La synthèse de l'*a,c*-biladiène **21** a été réalisée en plusieurs étapes en utilisant les méthodes de Knorr, de Clezy et de Barton-Zard.^{32,33,339} Cette synthèse est décrite dans le Chapitre n°1 (III.3)

II.1.2.2 Synthèse de la *meso-p*-aminobenzylporphyrine

La condensation de l'*a,c*-biladiène **21** sur un équivalent de *p*-azidométhylbenzaldéhyde conduit à la formation de la porphyrine monoazoture **89**. L'aldéhyde azoture a été préalablement synthétisé par le Dr. Antoine Eggenspiller.³⁶ Généralement, un excès d'aldéhyde est mis en jeu par rapport à l'*a,c*-biladiène **21** dans le but d'augmenter le rendement de la réaction. Dans notre cas, seulement un équivalent est utilisé puisque la séparation sur colonne chromatographique entre l'aldéhyde azoture et la porphyrine **89** est difficile. La condensation a été effectuée au reflux de l'éthanol par addition lente (à l'aide d'une pompe péristaltique) de l'acide *p*-toluènesulfonique en solution dans l'éthanol (Schéma 57). L'ajout progressif de l'acide vise à limiter la formation du corrole, issu de la cyclisation de l'*a,c*-biladiène **21** sur lui-même.

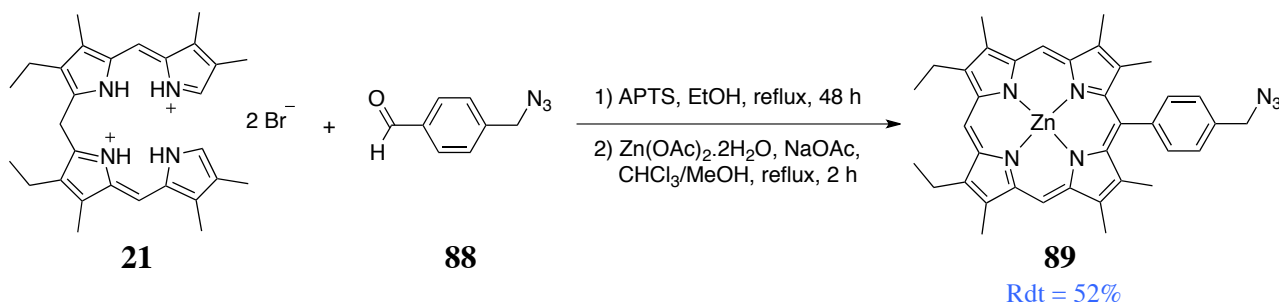
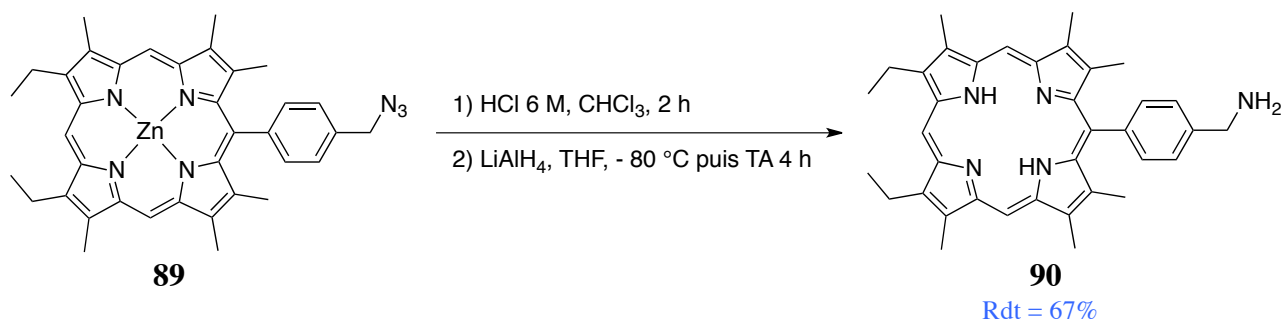


Schéma 57 : Synthèse de la porphyrine azoture métallée au zinc **89**.

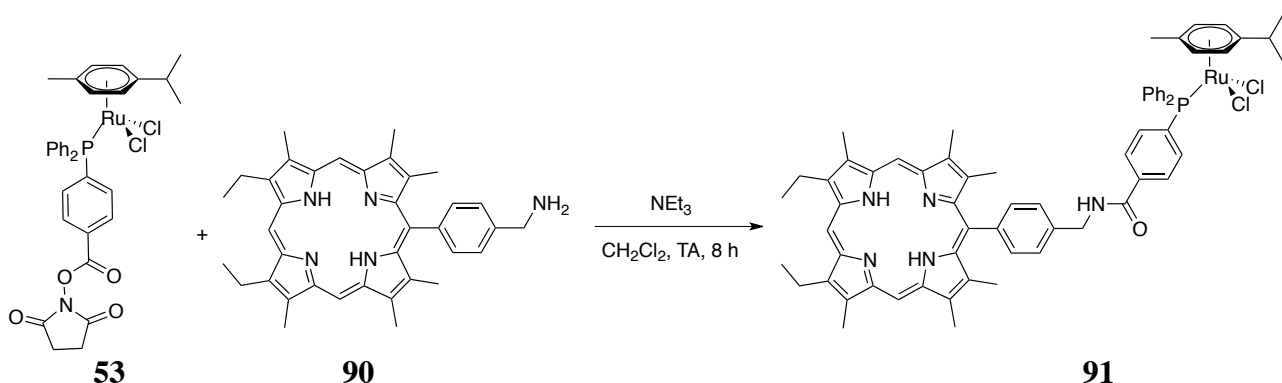
Dans le but de faciliter la purification, la porphyrine **89** a été métallée par ajout d'un excès d'acétate de zinc et d'acétate de sodium. Le choix du zinc pour la métallation se justifie par le fait qu'il peut être retiré facilement par l'ajout d'acide chlorhydrique. La porphyrine azoture **89** a pu être isolée avec un rendement de 52%. La formation de la porphyrine azoture **89** a été mise en évidence par spectroscopie UV-Visible, par spectroscopie RMN ¹H et par spectrométrie de masse.

L'étape suivante consiste en la réduction de la fonction azoture en amine. Le zinc a été préalablement retiré de la cavité porphyrinique. Le suivi réactionnel a été effectué par CCM et après 2 h, le métal a été totalement retiré. Après plusieurs lavages à l'eau distillée, la porphyrine base libre obtenue est directement mise en réaction dans l'étape de réduction. Au sein du laboratoire, la réduction avec de l'hydruure de lithium LiAlH₄ a été mise au point. La réduction a été donc réalisée par ajout goutte à goutte de la solution de porphyrine azoture dans le tétrahydrofurane à - 80 °C sur la solution d'hydruure. La porphyrine benzylamine base libre **90** a été isolée avec un rendement de 67% pour les étapes de démétallation et de réduction (Schéma 58).

Schéma 58 : Synthèse de la porphyrine base libre benzylamine **90**.

II.1.3 Couplage direct avec le dérivé ester activé ruthénium

Dans un premier temps, notre objectif a été d'effectuer un couplage direct entre la porphyrine benzylamine **90** et l'ester activé aryldiphénylphosphine ruthénium **53**. L'introduction de métaux de nature différente dans le cœur porphyrinique permettra d'obtenir différentes modalités d'imagerie médicale ou de thérapie. Afin d'éviter la décooordination de l'arène du ruthénium, la synthèse a été effectuée à température ambiante. (Schéma 59)

Schéma 59 : Synthèse du complexe porphyrine base libre-ruthénium **91**.

Les analyses RMN ^1H et ^{31}P du brut réactionnel montrent un mélange des précurseurs (**90** et ester activé ruthénium) et du produit désiré **91**. D'après le spectre RMN ^1H , le brut est composé de 25% de porphyrine benzylamine, 25% d'ester activé ruthénium et 50% de complexe **91**. Afin de purifier le produit par précipitation sélective, plusieurs solvants ont été testés mais aucun n'a donné de résultats probants (ils solubilisent ou précipitent tout le milieu). La purification par colonne chromatographique sur gel de silice n'a pas non plus permis d'isoler le produit pur. En effet, les analyses RMN ^1H et de spectrométrie de masse ESI ont montré la disparition des pics correspondant à l'unité porphyrinique, mais le spectre RMN ^{31}P indique la présence du pic relatif à l'ester activé ruthénium à $\delta = 25,1$ ppm ainsi que du composé **90** à $\delta = 26,2$ ppm. N'ayant pas réussi à isoler le complexe, nous avons décidé de procéder étape par étape pour faciliter la purification des complexes.

II.1.4 Couplage peptidique avec le précurseur diphenylphosphine

Le couplage peptidique entre l'ester activé aryldiphénylphosphine **57** et la porphyrine benzylamine porteuse d'une fonction amine primaire **90** constitue la première étape de cette synthèse. La réaction a été réalisée dans le dichlorométhane distillé sous argon à température ambiante durant 6 h. Le

milieu réactionnel a été suivi par analyse RMN ^{31}P no lock. Les analyses ont montré une évolution réactionnelle très lente. Seulement 23% de produit a été formé. L'objectif a été donc d'accélérer la réaction par chauffage à reflux du milieu réactionnel dans le chloroforme dégazé sous argon (Schéma 60).

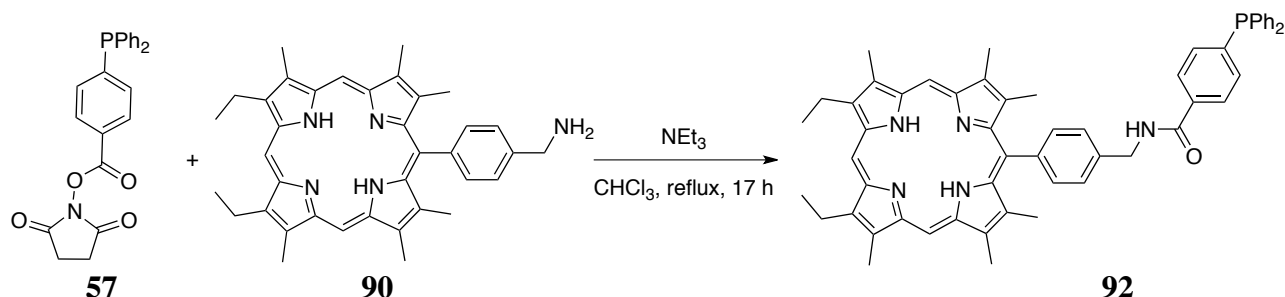


Schéma 60 : Synthèse de la porphyrine base libre-phosphine **92**.

Le suivi de la réaction par RMN ^{31}P no lock a montré, après 17 h, la formation du ligand porphyrinique phosphine **92** avec 88% de rendement, en considérant qu'il ne reste plus de précurseur porphyrinique (visible que par RMN ^1H). La purification a été réalisée sur une colonne chromatographique sur gel de silice sous argon (éluant : dichlorométhane (distillé)/méthanol (dégazé) (3%)). L'analyse spectrale RMN ^{31}P a permis d'évaluer la composition du mélange obtenu 7% d'ester activé phosphine **57** à $\delta = -4,8$ ppm, 41% de produit **92** à $\delta = -5,3$ ppm et 52% de la forme oxydée de **92** à $\delta = 28,8$ ppm. Pour pallier à ce problème d'oxydation, une alternative consiste à purifier le ligand phosphine **92** sur une colonne chromatographique d'alumine sous argon (éluant : dichlorométhane (distillé)/méthanol (dégazé) (5%)). Le spectre RMN ^{31}P a montré 79% de produit **92** et 21% de sa forme oxydée (Figure 150).

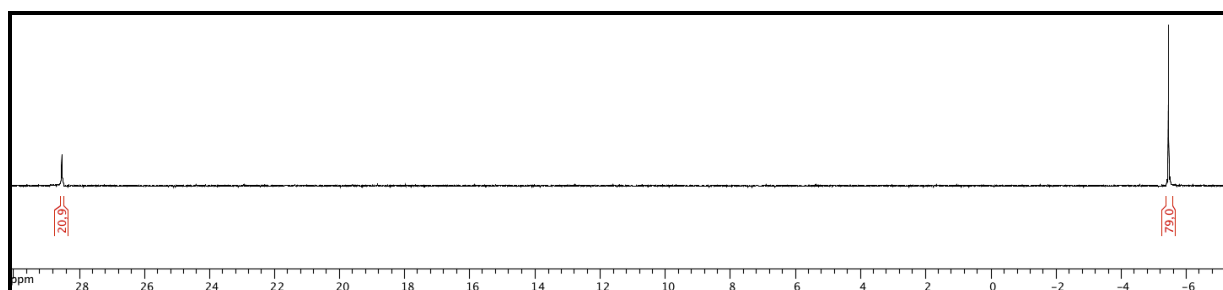


Figure 150 : Spectres RMN ^{31}P du composé **92** après colonne chromatographique sur alumine.

L'utilisation d'alumine a permis de réduire la formation d'oxyde qui a lieu lors de la purification mais le problème n'a pas été totalement résolu. Cependant, malgré les 21% d'oxyde, la complexation au ruthénium du ligand porphyrine phosphine **92** a été effectuée par la suite.

II.1.5 Complexation du ligand porphyrine phosphine

La complexation du ligand porphyrine phosphine **92** a été réalisée à partir du précurseur dimérique de ruthénium (Ru^{II}) $[(p\text{-cymène})\text{RuCl}_2]_2$ **61**. Pour cela, l'unité porphyrinique **92** préalablement synthétisée a été mise en présence du précurseur de ruthénium dans le benzène à température ambiante durant 3 h sous atmosphère inerte (Schéma 61).

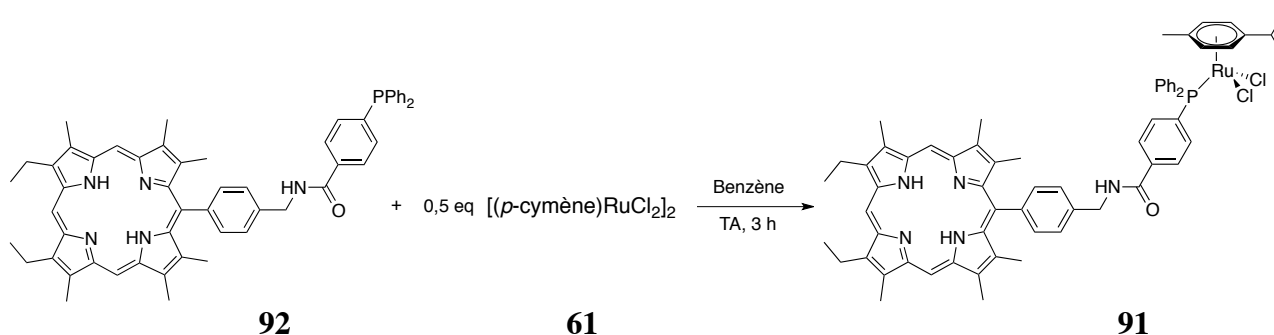


Schéma 61 : Synthèse du complexe porphyrine base libre-ruthénium 91.

Le spectre RMN ^{31}P a montré la disparition du pic à $\delta = -5,4$ ppm correspondant au composé **92** et l'apparition d'un pic à $\delta = 24,6$ ppm indiquant la formation du complexe. Le pic d'oxydation de **92** à $\delta = 25,0$ ppm est toujours présent. L'analyse RMN ^1H du brut réactionnel a mis en évidence la présence de 59% de complexe formé **91**, 19% de ligand **92** oxydé et 18% de dimère de ruthénium. Malgré de nombreux essais, le produit n'a pas été isolé.

Sans que nous sachions réellement pourquoi, le greffage de l'ester activé aryldiphénylphosphine **57** sur le synthon porphyrinique rend le groupement phosphine très facilement oxydable. Il a donc fallu trouver une stratégie de synthèse permettant l'obtention du ligand pur sans faire intervenir une purification par colonne chromatographique.

II.2 Synthèse à partir de la porphyrine aniline

II.2.1 Stratégie de synthèse

Nous avons voulu conserver l'utilisation de l'ester activé aryldiphénylphosphine **57** pour avoir la même fonction de greffage et les mêmes conditions opératoires que la synthèse des complexes à base de BODIPYs (chapitre n°2). Cependant, la synthèse de la porphyrine benzylamine nécessite beaucoup d'étapes pour l'obtention d'une quantité modeste de produit. Pour disposer assez rapidement de suffisamment de matière pour effectuer les tests de couplage, l'emploi de la porphyrine aniline a été envisagé (Figure 151). Une optimisation du mode opératoire nous a permis de préparer cette porphyrine à l'échelle du gramme. De même, cette porphyrine A_3B substituée par un groupement aniline est intéressante pour introduire facilement trois fonctions sulfonates sur les positions *para* des groupements phényles non substitués. Par conséquent, il sera possible de développer assez facilement l'analogue hydrosoluble de cette porphyrine.

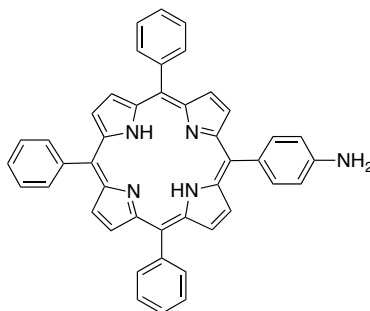


Figure 151 : Structure de la porphyrine aniline visée.

II.2.2 Synthèse des précurseurs porphyriniques

II.2.2.1 Synthèse de la porphyrine A₃B aniline base libre

La tétraphénylporphyrine (TPP) est une porphyrine très connue et facilement synthétisable à grande échelle (de l'ordre de la centaine de grammes avec un réacteur de 20 L). Elle est réalisée selon la méthode d'Adler et Longo par la mise en solution dans l'acide propionique du pyrrole et du benzaldéhyde.^{25,340}

La première étape pour la synthèse de la porphyrine aniline est la mononitration de la tétraphénylporphyrine en position *para* du groupement phényle.³⁴¹ Pour cela, la tétraphénylporphyrine et 1,8 équivalents de nitrate de sodium sont mis en solution dans l'acide trifluoroacétique durant exactement trois minutes afin de limiter la dinitration voire, plus rarement, la trinitration. La réaction a été stoppée en versant le milieu réactionnel dans une grande quantité d'eau. Après neutralisation du milieu acide, la porphyrine monofonctionnalisée avec un groupement nitro **94** a été isolée avec un rendement de 75% (Schéma 62).

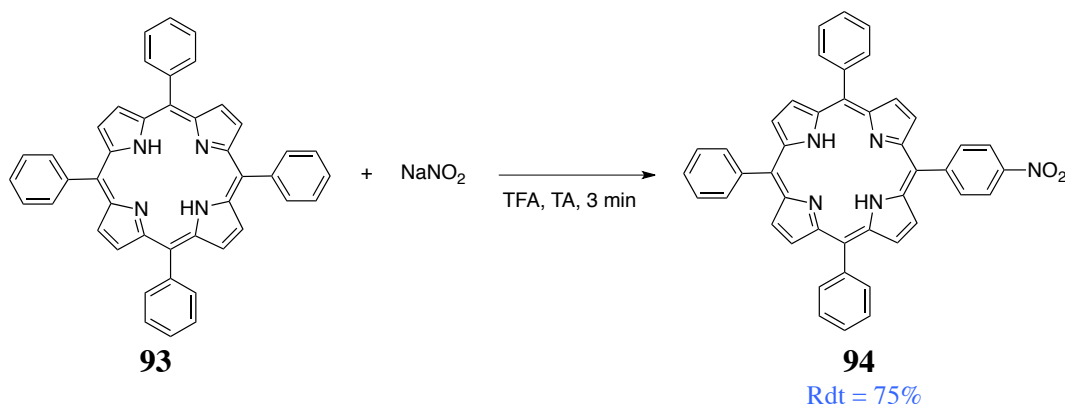


Schéma 62 : Synthèse de la tétraphénylporphyrine base libre-NO₂ **94**.

L'étape suivante consiste en la réduction de la fonction nitro en amine. Dans la bibliographie, dans la très grande majorité des cas, cette réduction est effectuée en utilisant du chlorure d'étain et de l'acide chlorhydrique.³⁴²⁻³⁴⁴ Or, l'étain est connu pour sa forte toxicité et il est préférable d'éviter de l'utiliser quand le produit est à visée biologique. Pour pallier à ce problème, une alternative consiste à utiliser du 2-mercaptoéthanol et de la lithine. Cette méthode a été développée par Shen et *al.* en 2005.³⁴⁵ La méthode consiste à mettre en solution la porphyrine nitro **94**, un excès de 2-mercaptoéthanol et de la lithine dans le diméthylformamide anhydre. Le milieu réactionnel a été chauffé à 120 °C sous argon (Schéma 63).

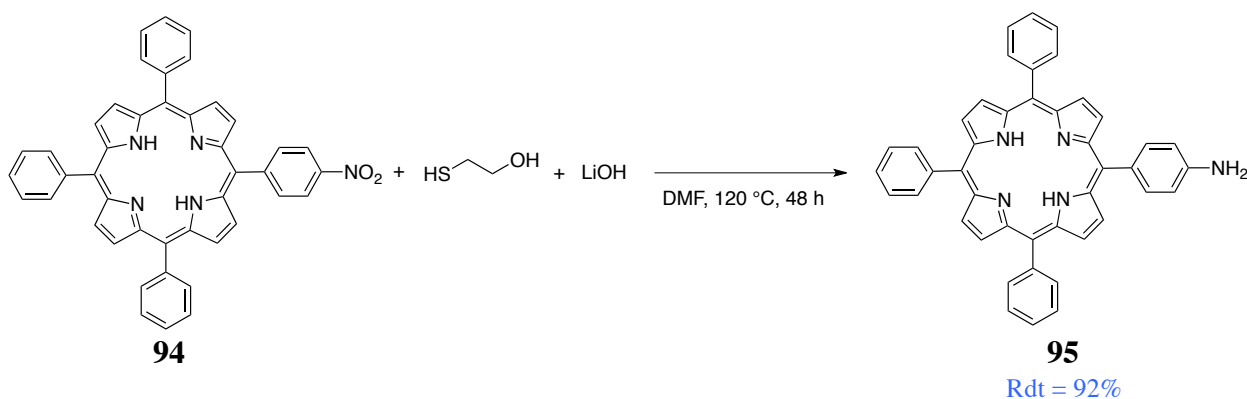


Schéma 63 : Synthèse de la tétraphénylporphyrine base libre-NH₂ **95**.

Après 48 h, la réaction est stoppée et la porphyrine amine **95** est isolée avec un rendement de 92%. La formation du composé **95** a été mise en évidence par spectrométrie de masse MALDI-TOF et ESI, et par spectroscopie RMN ^1H . La superposition des spectres RMN ^1H de la porphyrine nitro **94** et amine **95** dans le CDCl_3 montre un blindage des protons aromatiques caractéristiques de l'aniline, passant de $\delta = 8,64$ à $8,00$ ppm et de $\delta = 8,40$ à $7,06$ ppm. La formation de la fonction amine est également identifiée par l'apparition d'un singulet intégrant pour deux protons à $\delta = 4,02$ ppm (Figure 152).

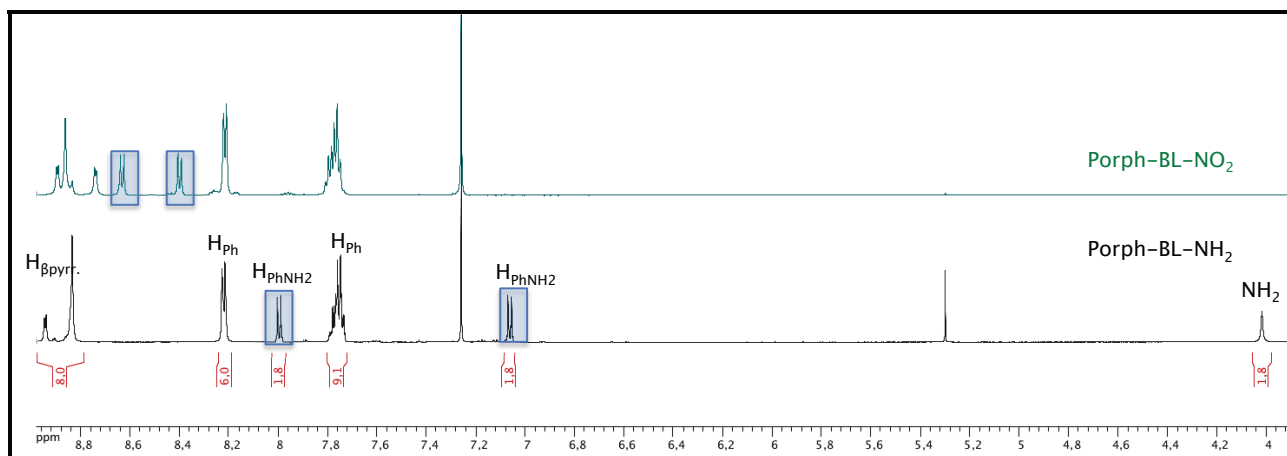


Figure 152 : Superposition des spectres RMN ^1H de la porphyrine nitro **94** et de la porphyrine amine **95** (600,13 MHz, CDCl_3 , 300 K).

La synthèse d'une porphyrine aniline métallée au palladium a également été étudiée.

II.2.2.2 Synthèse de la porphyrine **A₃B** aniline métallée au palladium

Sur une porphyrine base libre (non métallée), les amines pyrroliques peuvent se protonner facilement en présence d'un acide pour former une entité dicationique où les quatre atomes d'azote sont protonés. Elle peut également se déprotoner pour donner l'espèce dianionique. La présence du palladium au cœur de l'entité porphyrinique permet d'éviter ces réactions acido-basiques. De plus, il est intéressant de noter que le motif « porphyrine-palladium » est un fluorophore de choix. En effet, les porphyrines métallées au palladium ou au platine fluorescent à des longueurs d'onde élevées, jusqu'à se situer dans la zone du proche IR. La fenêtre optique du proche IR apparaît optimale pour une imagerie *in vivo* puisque ce domaine permet de réduire nettement l'autofluorescence des tissus biologiques (cf. introduction). Durant ces dernières années, de nombreux efforts ont été déployés pour étudier ces complexes porphyriniques car ils présentent une phosphorescence très intense ainsi qu'une faible fluorescence. Ses propriétés ont été donc étudiées pour des applications dans le domaine de la biochimie. Par exemple, des porphyrines de palladium liées à un antigène ou à un anticorps permettent de détecter par fluorescence une grande variété de substances d'intérêt biologique comme l'ADN ou certaines cellules cancéreuses.^{346,347} De plus, la phosphorescence des complexes de palladium est utilisée pour mesurer la concentration en dioxygène en milieu biologique. Certaines techniques permettent de déterminer des concentrations en dioxygène par mesure de la durée de vie en dioxygène³⁴⁸⁻³⁵² (le dioxygène agissant comme un désactivant de la phosphorescence), tandis d'autres permettent d'établir des cartes de teneurs en dioxygène d'un organe ou d'un organite par mesure de l'intensité de la phosphorescence.³⁵²⁻³⁵⁵

La tétraphénylporphyrine aniline palladium a été synthétisée dans les mêmes conditions que son analogue base libre (Schéma 64). La métallation a été effectuée après nitration de la porphyrine base libre. Le précurseur métallique employé est le dichlorure de palladium. Le suivi réactionnel a

été réalisé par spectroscopie UV-visible. Le suivi s'effectue très facilement puisque la porphyrine base libre présente quatre bandes Q situées entre 480 et 700 nm tandis que la métalloporphyrine est distinguée par deux bandes Q. La bande de Soret reste quant à elle quasiment inchangée (Figure 153).

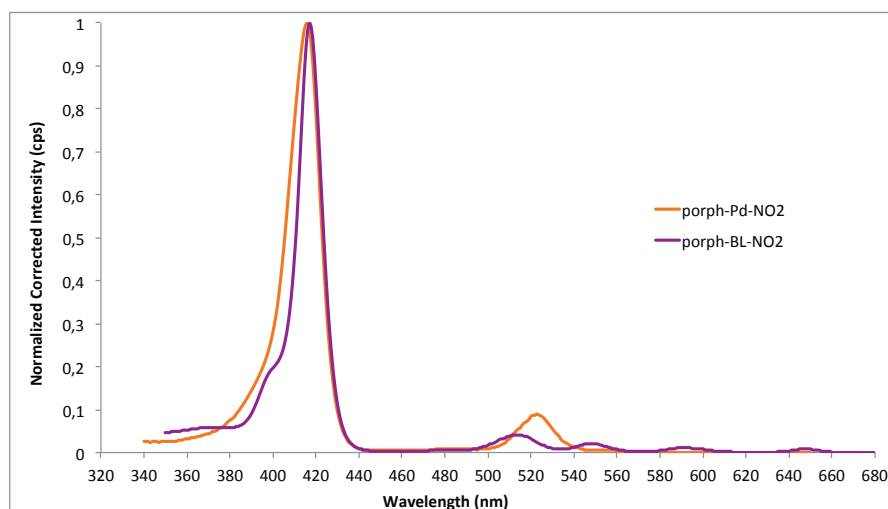


Figure 153 : Superposition des spectres UV-visible d'une porphyrine base libre 94 et d'une porphyrine métallée au palladium 97.

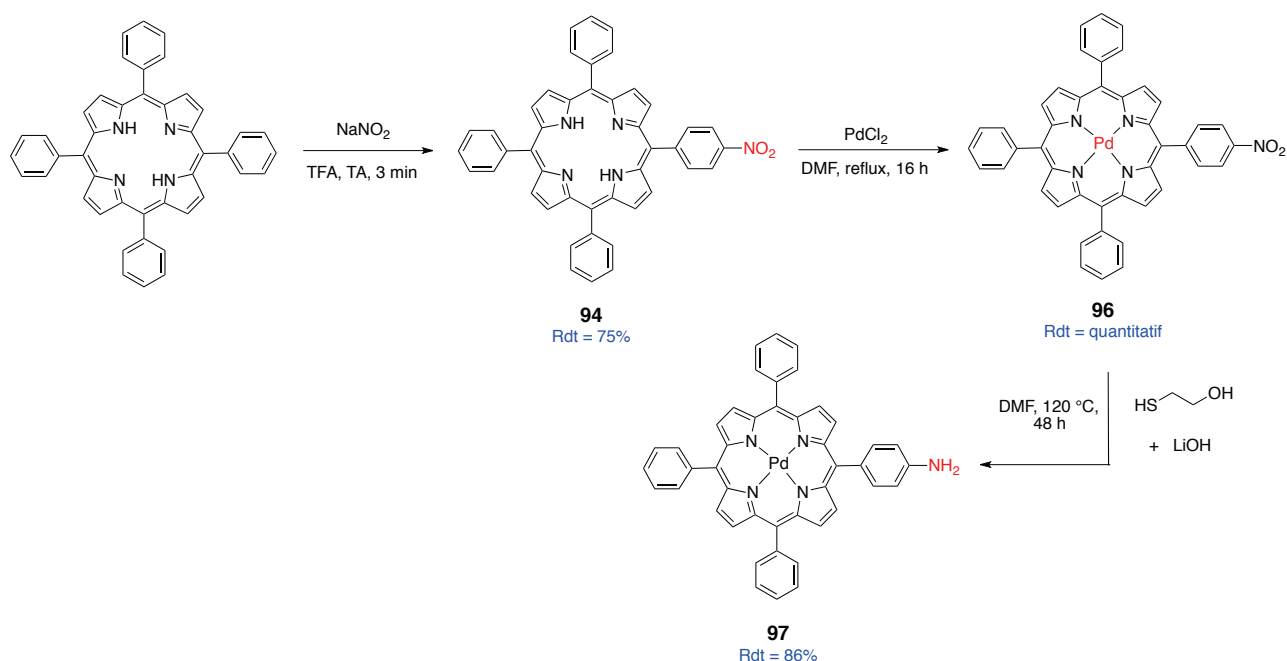


Schéma 64 : Synthèse de la tétraphénylporphyrine palladium-NH₂ 97.

La tétraphénylporphyrine palladium a été obtenue avec de très bons rendements : 65% pour 3 étapes.

II.2.3 Couplage avec l'ester activé aryldiphénylphosphine

Un couplage peptidique a été envisagé entre la porphyrine aniline palladium **97** et l'ester activé aryldiphénylphosphine **57**. Des conditions de synthèse identiques à celles de la synthèse du ligand BODIPY phosphine **58** ont été employées (Schéma 65).

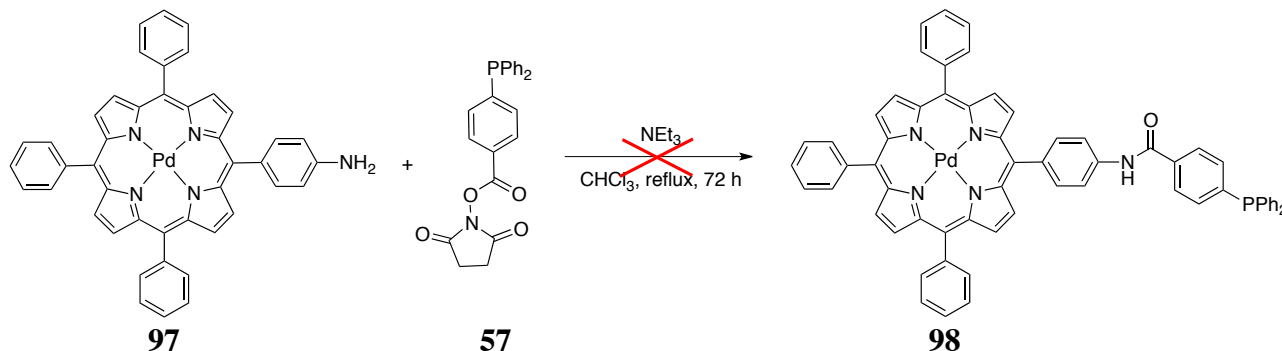


Schéma 65 : Synthèse de la tétraphénylporphyrine palladium-phosphine **98**.

Après 72 h de chauffage à reflux, aucune conversion n'est observée par CCM ou par spectrométrie de masse MALDI-TOF.

Un test d'activation par irradiation micro-ondes a également été réalisé à 110 puis 170°C sans plus de succès.

Comme nous le craignons l'aniline n'est pas suffisamment nucléophile pour effectuer un couplage peptidique avec une fonction ester activé. Par conséquent, nous avons voulu utiliser une fonction plus réactive sur la porphyrine.

II.3 Synthèse à partir de la porphyrine isothiocyanate

II.3.1 Stratégie de synthèse

La troisième stratégie de synthèse consiste, dans un premier temps, à introduire une fonction très réactive sur ce noyau porphyrinique à partir des porphyrines anilines **95** et **97** faciles d'accès. Pour ce faire, nous avons choisi la fonction isothiocyanate, très réactive envers les fonctions amines (Figure 154). Ces porphyrines isothiocyanates pourront alors être couplées à une aminophosphine pour conduire aux porphyrines phosphines désirées (Figure 155).

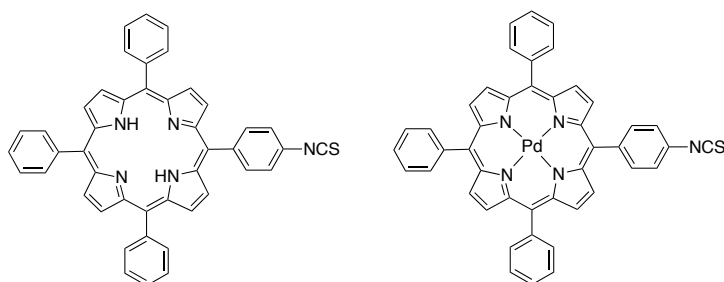


Figure 154 : Structures des porphyrines isothiocyanates visées.

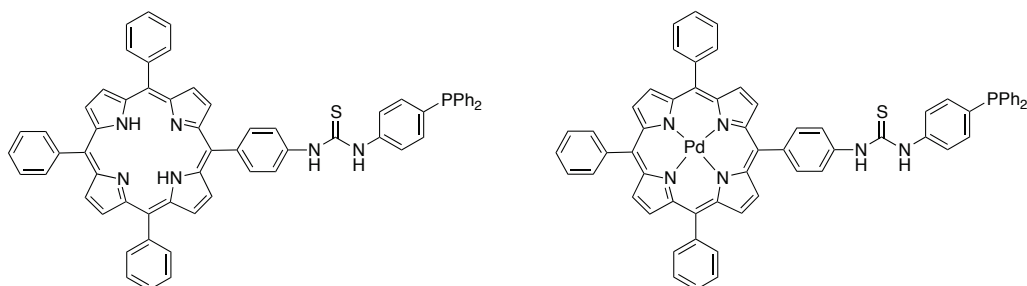
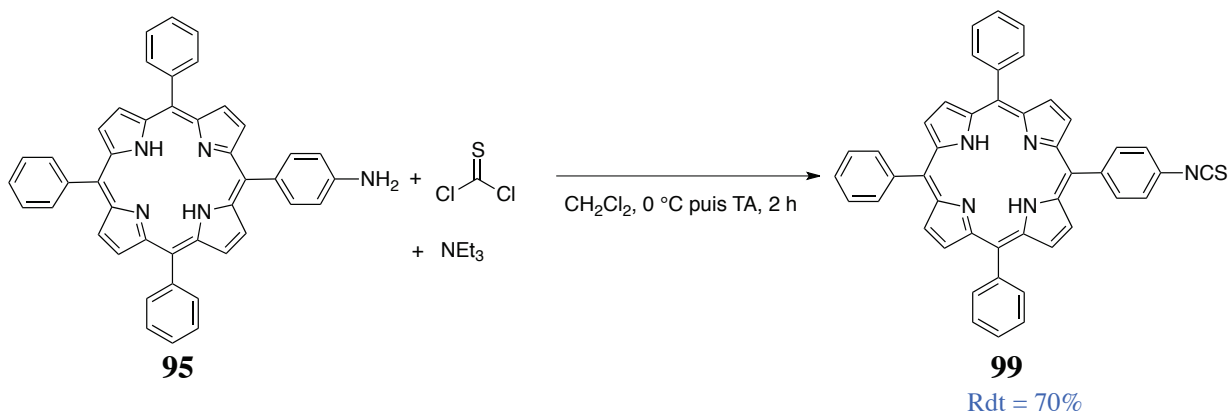


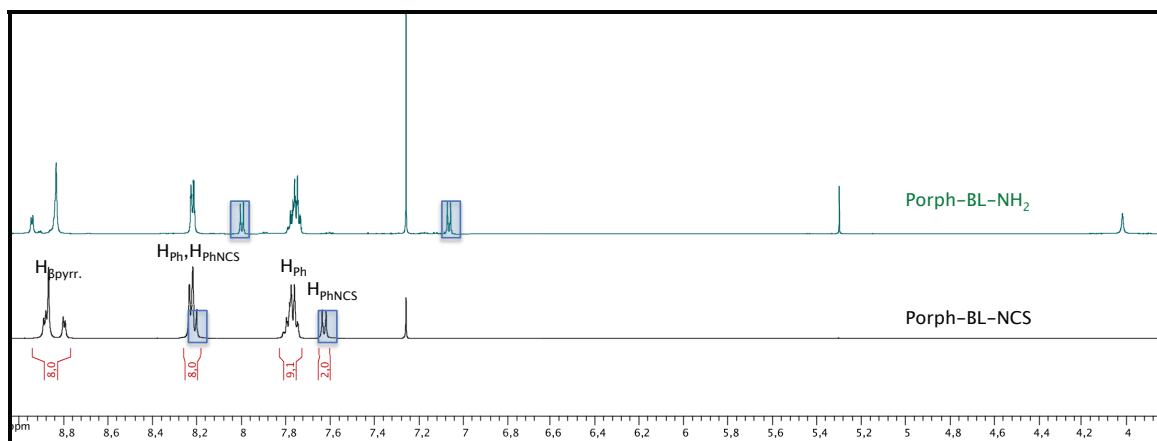
Figure 155 : Structures des porphyrines phosphines désirées.

II.3.2 Synthèse des précurseurs porphyriniques

La fonctionnalisation de la porphyrine aniline en isothiocyanate a été réalisée à partir du thiophosgène.²⁰⁹ Le produit **99** a été isolé par filtration sur un « plug » de silice avec un rendement de 70%.

Schéma 66 : Synthèse de la tétraphénylporphyrine base libre-isothiocyanate **99**.

La formation de la porphyrine **99** a été mise en évidence par spectrométrie de masse MALDI-TOF et par spectroscopie RMN ^1H . La superposition des spectres RMN ^1H des composés **95** et **99** révèle le changement de la fonction amine en isothiocyanate par un déblindage significatif des protons relatifs à l'aryle porteur de la fonction. Les doublets passent de $\delta = 8,00$ à $8,21$ ppm et de $\delta = 7,06$ à $7,63$ ppm respectivement. La formation du groupement isothiocyanate est également caractérisée par la disparition du singulet à $\delta = 4,02$ ppm relatif aux protons de l'amine (Figure 156).

Figure 156 : Superposition des spectres RMN ^1H de la porphyrine amine **95** et de la porphyrine isothiocyanate **99** (500,13 MHz, CDCl_3 , 300 K).

Dans des conditions opératoires identiques, le dérivé porphyrinique métallé au palladium **100** a été obtenu avec un rendement de 93%. Les spectres RMN ^1H des composés **100** et **99** sont très similaires.

II.3.3 Couplage avec la 4-(diphénylphosphino)aniline

Nous disposons au laboratoire de la 4-(diphénylphosphino)aniline.³⁵⁶ Nous avons donc étudié la condensation de cette amine sur la porphyrine isothiocyanate **100** (Schéma 67).

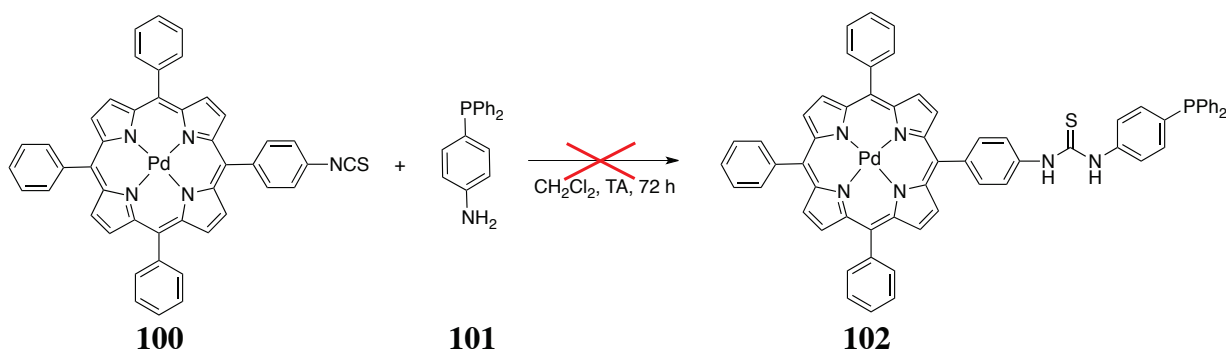


Schéma 67 : Synthèse de la tétraphénylporphyrine palladium-phosphine **102**.

Après 72 h de réaction à température ambiante, le suivi par CCM indique la formation du produit en très faible quantité.

Après 48 h à reflux dans le chloroforme, le spectre RMN ^{31}P du milieu réactionnel n'évolue plus et montre deux singulets correspondant au produit désiré **102** et au précurseur aminophosphine dans un ratio 81/19. L'analyse RMN ^1H dans le CDCl_3 du brut réactionnel confirme ce résultat : nous observons la disparition du doublet à $\delta = 6,72$ ppm relatif aux protons en α de la fonction aniline et par un déblindage de l'ordre de $\Delta\delta = 0,1$ ppm des protons caractéristiques de la diphénylphosphine. Des impuretés correspondant à l'oxydation du précurseur *p*-diphénylphosphine aniline ont été également observées. Elles ont déjà été constatées avant de lancer la réaction de couplage avec la porphyrine (Figure 157). La purification sur colonne chromatographique sur gel de silice du précurseur seul n'a pas permis d'isoler le produit.

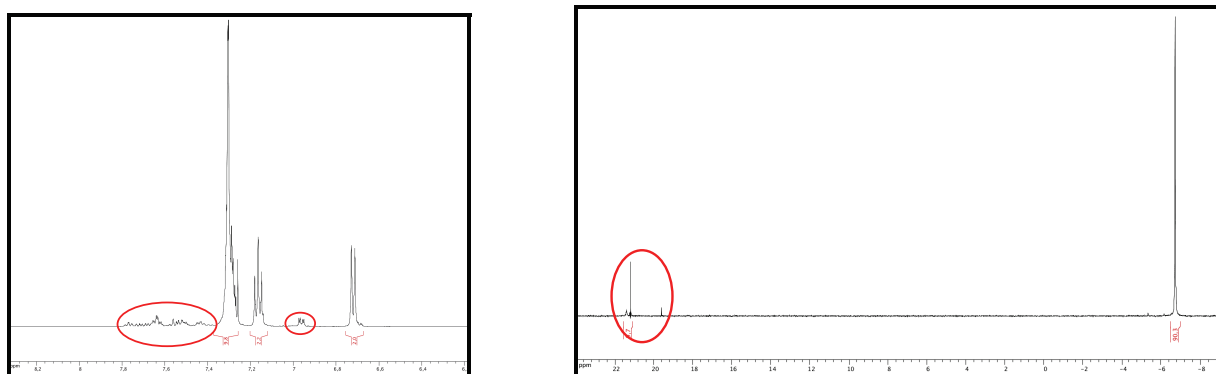


Figure 157 : Spectres RMN ^1H et ^{31}P de la *p*-diphénylphosphine aniline **101** (500,13 MHz, CDCl_3 , 300 K).

Après colonne chromatographique sur alumine et sous argon (éluant : dichlorométhane (distillé)/hexane (dégazé) (7 : 3)), une oxydation de l'ordre de 84% de la porphyrine phosphine **102** a été observée par analyse RMN ^{31}P .

II.3.4 Couplage avec la 2-(diphénylphosphino)éthanamine

La 2-(diphénylphosphino)éthanamine est un produit commercial. Elle possède une fonction alkyle amine primaire, fonction a priori très réactive vis à vis de la fonction isothiocyanate. Dans le but de vérifier la réactivité d'une amine primaire de ce type sur la porphyrine isothiocyanate palladium **100**, la porphyrine isothiocyanate et la phényléthylamine ont été mise en solution en quantités stœchiométriques dans le dichlorométhane à température ambiante durant 1h30 (Schéma 68). Le solvant du brut réactionnel a été simplement évaporé.

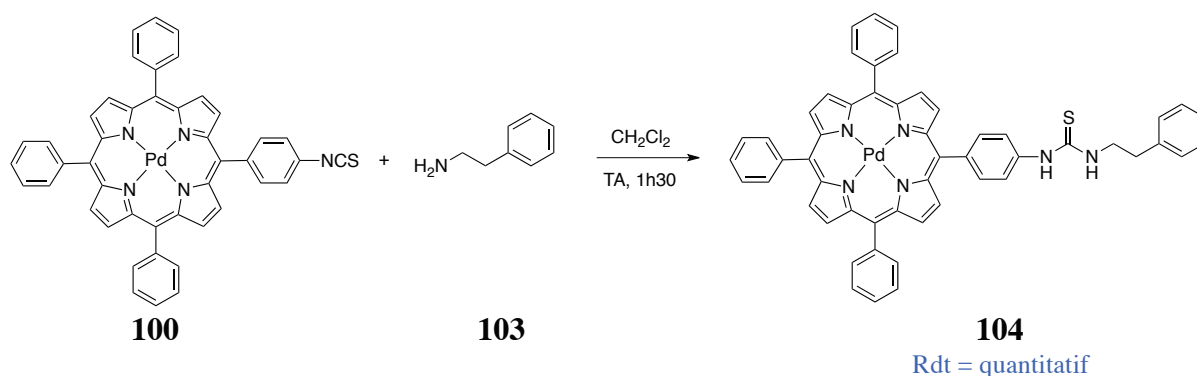


Schéma 68 : Synthèse de la porphyrine palladium-phényléthylamine **104**.

La formation du composé **104** a été mise en évidence par spectrométrie RMN ^1H (Figure 158). L'apparition d'un singulet large à $\delta = 8,13$ ppm et d'un multiplet à $\delta = 7,24$ ppm, intégrant chacun pour un proton, indique la formation d'une fonction thiourée. De même, un blindage des doublets caractéristiques des protons phényles en *ortho* et *méa* de la fonction isothiocyanate a été observé. Les protons β -pyrroliques en position 8, 12 et 7, 13 du composé **104** ont changé de multiplicité par comparaison avec la porphyrine isothiocyanate, et apparaissent sous forme de deux doublets bien distincts (à $\delta = 8,89$ et $8,81$ ppm respectivement).

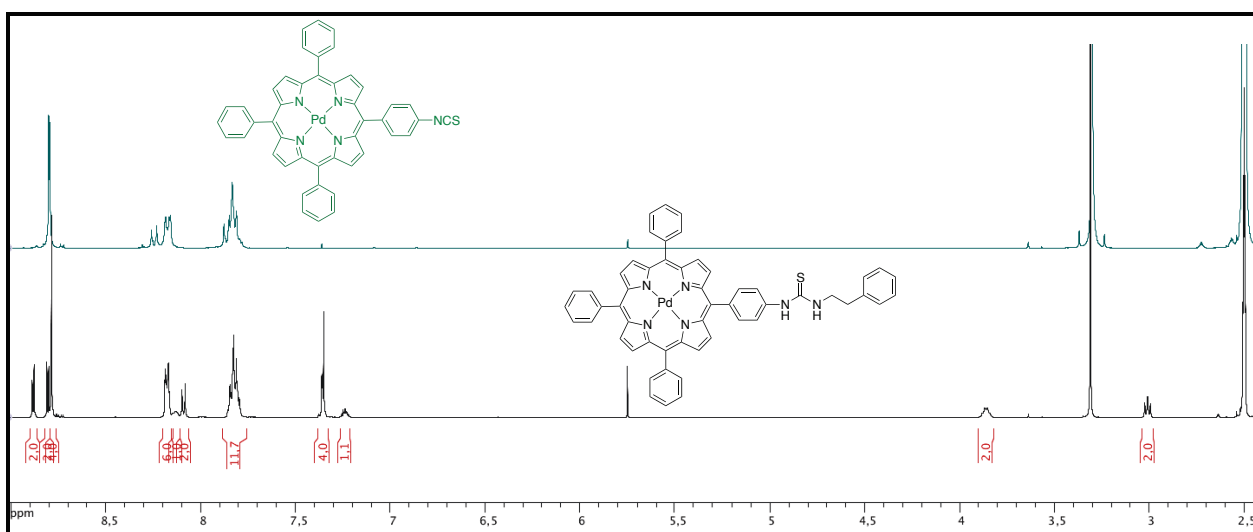


Figure 158 : Spectre RMN ^1H du composé **104** (500,13 MHz, DMSO- d_6 , 300 K).

Une analyse par spectrométrie de masse ESI-MS du composé **104** a montré la présence d'un amas isotopique correspondant au composé sans le soufre $[\text{M}_1-\text{H}]^+$ à $m/z = 865,20$ Da (Figure 159 et Figure 160). Un faible signal à $m/z = 887,11$ Da est également observé pour le composé $[\text{M}_1+\text{Na}]^+$.

ainsi qu'à $m/z = 895,22$ Da correspondant à $[M-H]^+$. La perte d'un soufre est due aux conditions spectroscopiques de l'ESI-MS.

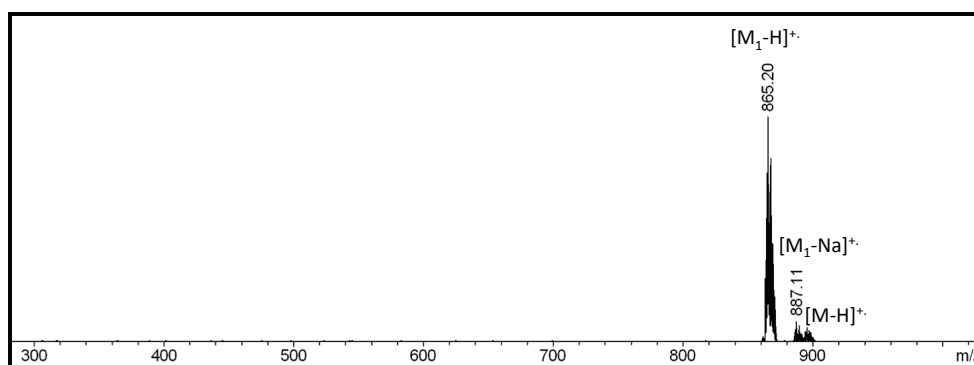


Figure 159 : Analyse par spectrométrie de masse ESI-MS du composé **104**.

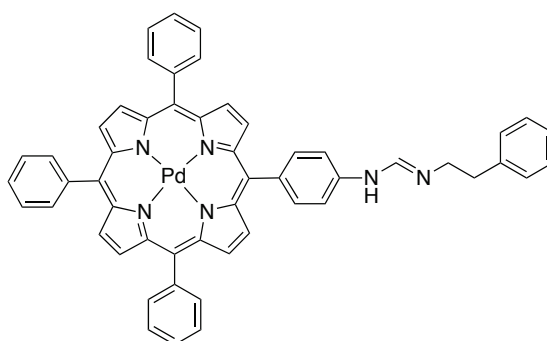


Figure 160 : Structure du composé **104** avec perte du soufre en ESI-MS (nommée M_1).

La synthèse du composé **104** a été obtenue quantitativement avec un très bon degré de pureté par simple évaporation du solvant du brut réactionnel. Nous avons donc appliqué exactement les mêmes conditions réactionnelles en remplaçant la phényléthylamine par la 2-(diphénylphosphino)éthanamine (Schéma 69).

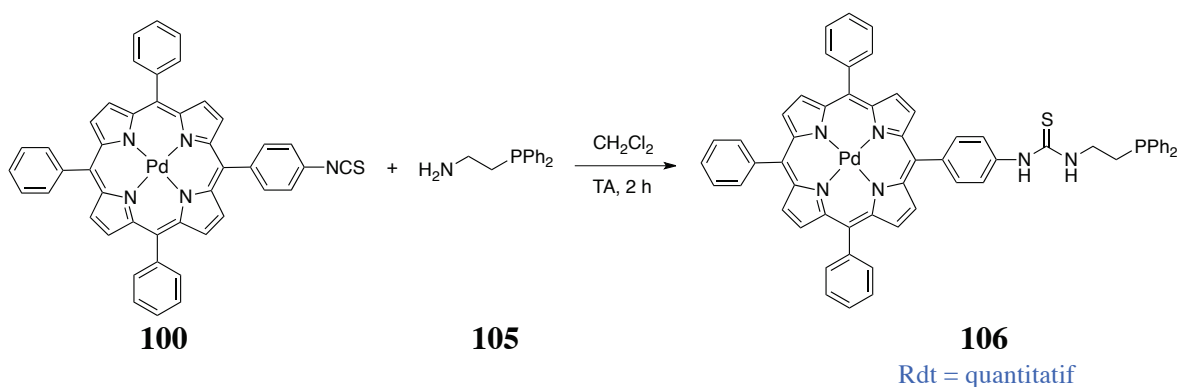


Schéma 69 : Synthèse de la porphyrine palladium-diphénylphosphine **106**.

Après évaporation du dichlorométhane, l'analyse RMN ^{31}P de la porphyrine phosphine **106** ne présente qu'un seul pic à $\delta = -21,6$ ppm. Le pic d'oxydation de la phosphine entre $\delta = 20$ et 30 ppm n'a pas été observé. L'analyse RMN ^1H de ce composé dans le CDCl_3 a permis d'identifier la structure et la pureté du produit (Figure 161). L'apparition d'un singulet et d'un multiplet à $\delta = 7,98$ et $6,82$ ppm respectivement indique la formation de la thiourée. Le déplacement du quadruplet correspondant aux protons du CH_2 en α de la thiourée (8), passant de $\delta = 2,86$ à $3,99$ ppm, indique

la condensation de l'éthylamine phosphine sur la porphyrine isothiocyanate. Le déblindage des protons du CH₂ en α de la phosphine (9), passant de $\delta = 2,24$ à $2,60$ ppm, sont également en accord avec la structure proposée.

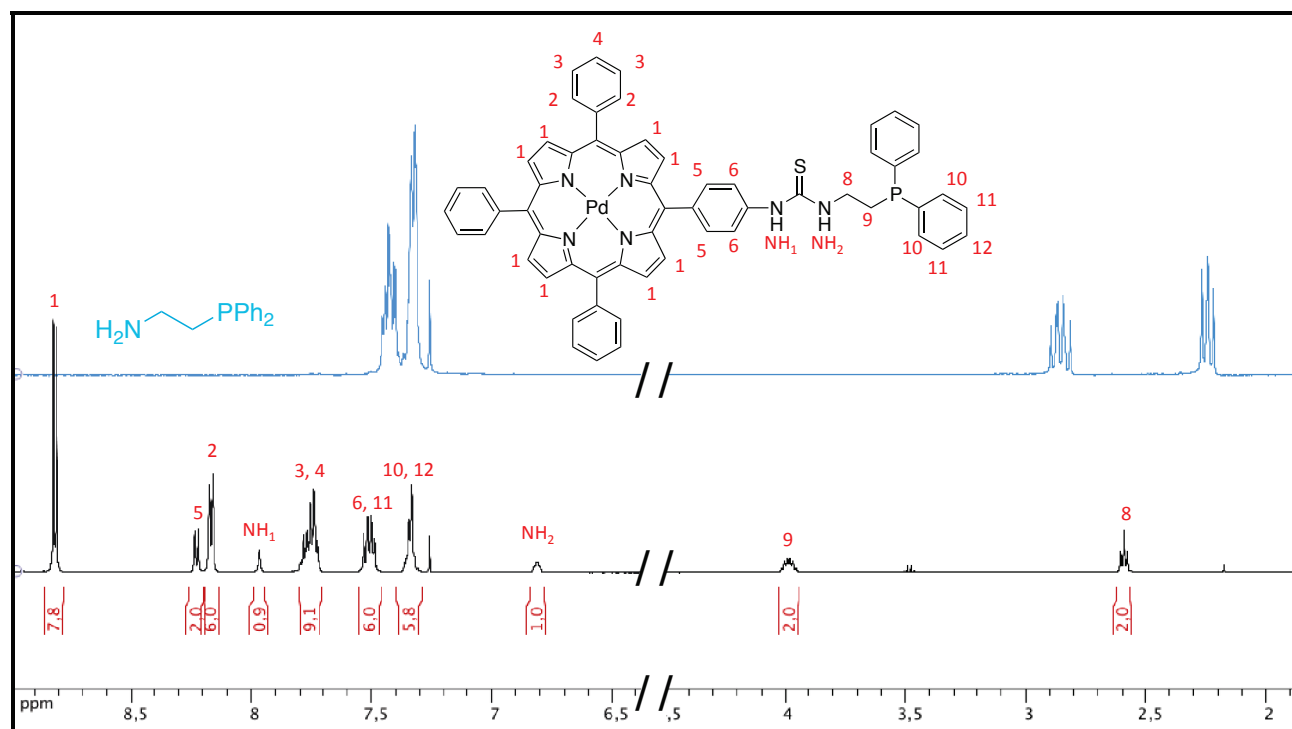


Figure 161 : Spectre RMN ¹H du composé **106** (500,13 MHz, CDCl₃, 300 K).

La synthèse du ligand porphyrine phosphine palladiée **106** a été réalisée avec de très bons rendements. Les conditions opératoires ont également été utilisées avec la version porphyrine base libre du ligand **99** (Schéma 70).

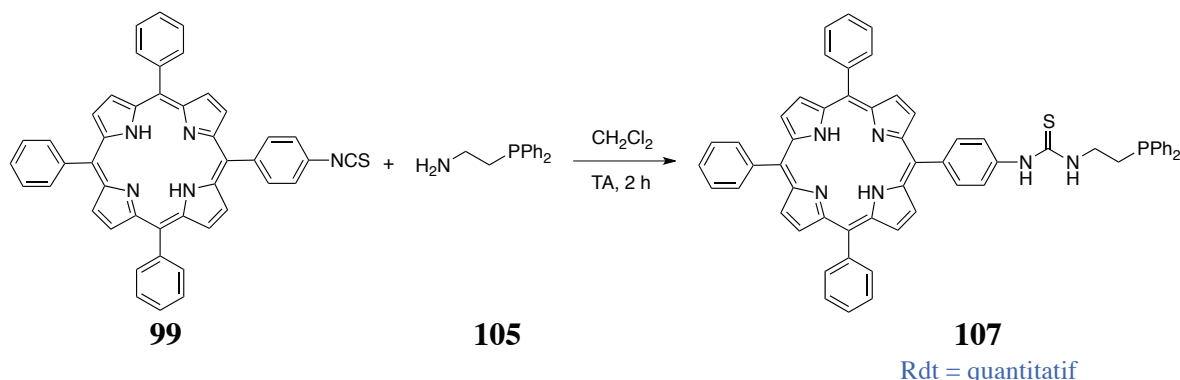


Schéma 70 : Synthèse de la porphyrine base libre-diphénylphosphine **107**. Le rendement annoncé n'est valable que dans le cas où la réaction est réalisée en boîte à gants.

Après évaporation du dichlorométhane, l'analyse RMN ³¹P de la porphyrine phosphine **107** dans CDCl₃ a montré la formation du produit à $\delta = -21,6$ ppm (91%) et une oxydation de la phosphine à $\delta = 33,1$ ppm (9%). Pour pallier ce problème, la synthèse a été réalisée en boîte à gants. Dans ce cas, le spectre RMN ³¹P dans le CDCl₃ indique la présence d'un seul pic à $\delta = -21,6$ ppm correspondant au produit **107**. L'analyse RMN ¹H a permis d'identifier la structure et d'évaluer la pureté du composé (Figure 162). L'apparition d'un singulet et d'un pseudo-singulet à $\delta = 7,98$ et $6,82$ ppm respectivement indique la formation de la thiourée. Le déplacement du quadruplet correspondant aux protons du CH₂ en α de la thiourée (8), passant de $\delta = 2,86$ à $3,99$ ppm, indique

la condensation de l'éthylamine phosphine sur la porphyrine isothiocyanate. Un déblindage des protons du CH₂ en α de la phosphine (9), passant de $\delta = 2,24$ à 2,60 ppm, a également été observé.

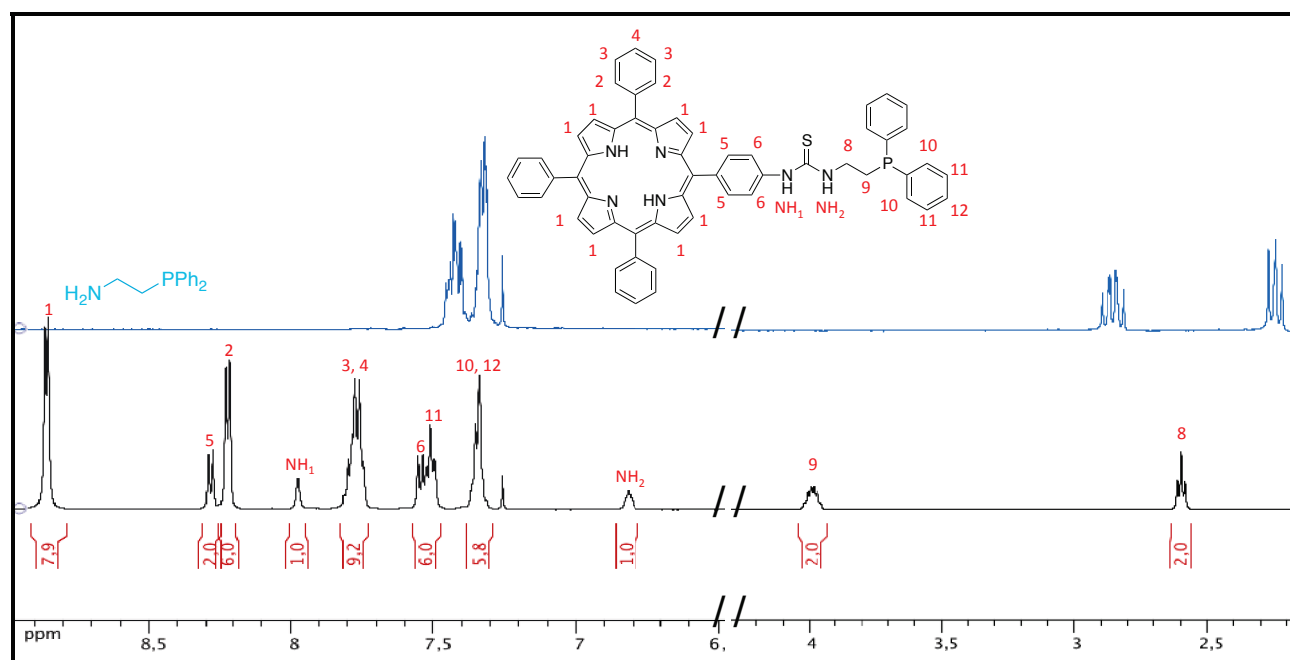


Figure 162 : Spectre RMN ¹H du composé 107 (500,13 MHz, CDCl₃, 300 K).

Les ligands porphyriniques phosphines, base libre et métallé au palladium, ont été synthétisés avec de très bons rendements. Aucune purification n'a été nécessaire et aucune trace d'oxyde n'a été détectée.

II.3.5 Complexation avec des dérivés organométalliques

II.3.5.1 Du ligand porphyrine phosphine métallé au palladium

Tous les complexes hétéro/bimétalliques sont préparés à partir des dimères de ruthénium et d'osmium (**61** et **63**) et du complexe d'or (**66**) précédemment décrit dans le chapitre n°2.

La complexation des métaux par les dérivés porphyriniques a été effectuée en boîte à gants pour éviter l'oxydation de la phosphine. L'utilisation du benzène comme solvant a été testée dans le but de faire précipiter le complexe formé mais sans succès. Le dichlorométhane, très bon solvant pour les porphyrines, lui a donc été préféré.

Les complexes métalliques sont obtenus quantitativement (Schéma 71). N'ayant pas la possibilité d'utiliser la méthode par précipitation pour purifier les complexes bimétalliques, les pesées du ligand et du précurseur métallique doivent être très précises. Ainsi, par simple évaporation du solvant du milieu réactionnel (dichlorométhane), les produits **108** et **109** ont été obtenus purs.

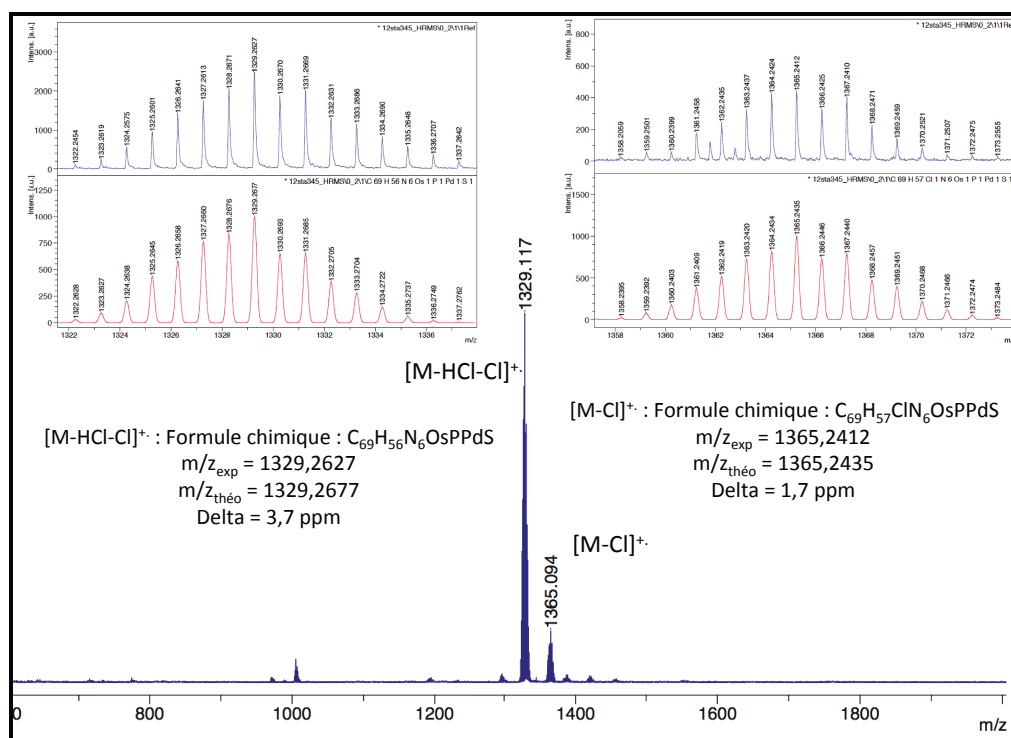


Figure 164 : Analyse de spectrométrie de masse haute résolution MALDI-TOF du composé 109.

Des analyses RMN 1H et ^{31}P ont été réalisées afin d'évaluer la pureté des complexes **108** et **109**. Dans un premier temps, les analyses RMN ont été effectuées dans le $CDCl_3$. Or, les spectres obtenus sont ininterprétables, vraisemblablement à cause de la formation de liaisons hydrogènes M-NH et/ou de liaisons métal-soufre. Afin de faciliter l'interprétation des spectres, nous avons choisi un solvant beaucoup plus coordonnant pour casser ces liaisons : le $DMSO-d_6$ (Figure 165).

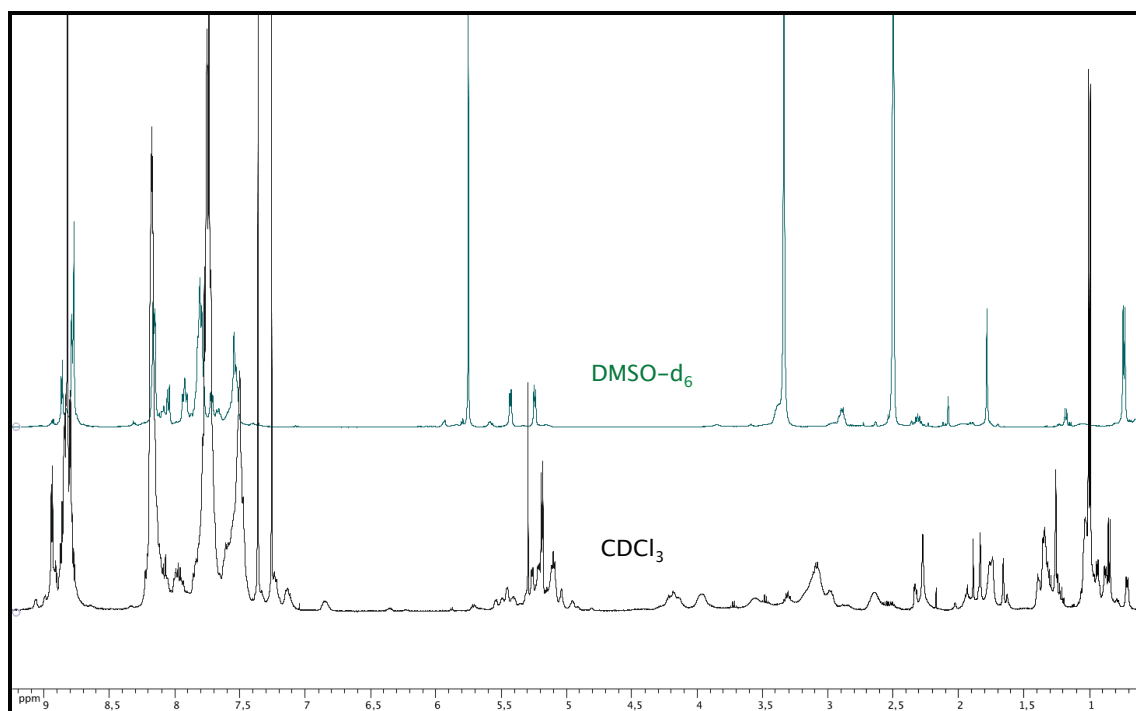


Figure 165 : Superposition des spectres RMN 1H du complexe 108 dans $CDCl_3$ et $DMSO-d_6$ (500,13 MHz, 300 K).

En RMN ^{31}P , un changement significatif du déplacement chimique a été observé entre le ligand libre (singulet à $\delta = -21,7$ ppm) et les complexes (singulet à $\delta = 19,9$ ppm pour le dérivé du ruthénium et à $\delta = -21,1$ ppm pour celui de l'Os). De plus, une superposition des spectres RMN ^1H du complexe, du ligand phosphine **106** et du précurseur dimérique de ruthénium dans les mêmes conditions (DMSO- d_6 , 500,13 MHz, 300 K) fait apparaître un blindage des noyaux d'hydrogène relatifs au *p*-cymène (Figure 166). On note également un changement au niveau des déplacements chimiques des protons aromatiques correspondant aux protons phényles de la fonction phosphine (de $\delta = 7,40$ à 7,55 ppm) et des protons des CH_2 en α et β de la fonction thiourée (de $\delta = 3,73$ à 3,38 ppm et de $\delta = 2,56$ à 2,90 ppm respectivement).

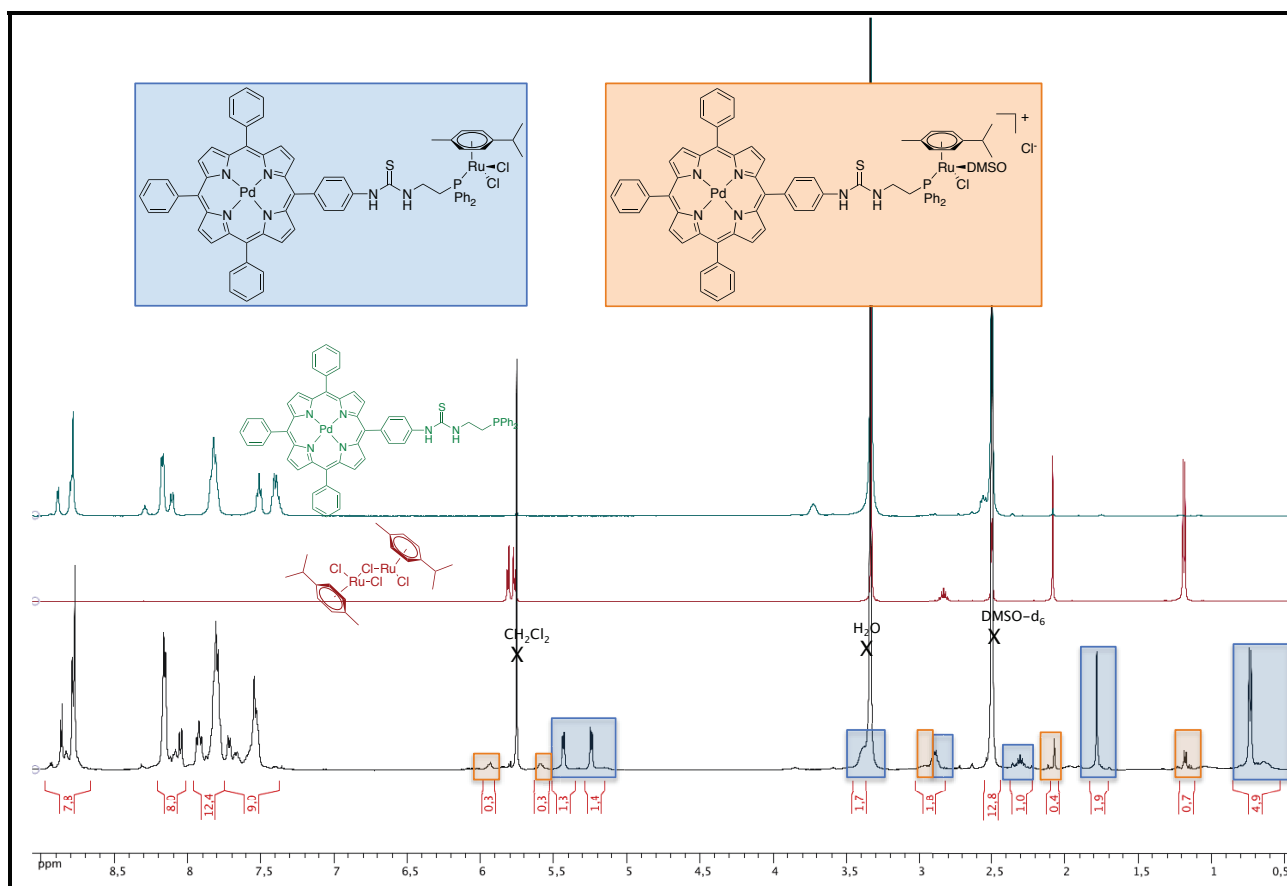


Figure 166 : Superposition des spectres RMN ^1H des précurseurs et de leur complexe correspondant (500,13 MHz, DMSO- d_6 , 300 K).

Sur les spectres RMN ^1H du complexe bimétallique, l'adduit de DMSO est également observé (Figure 167). La formation de cet adduit a été confirmée par une expérience RMN ^1H à température variable dans le DMSO- d_6 (Figure 168).

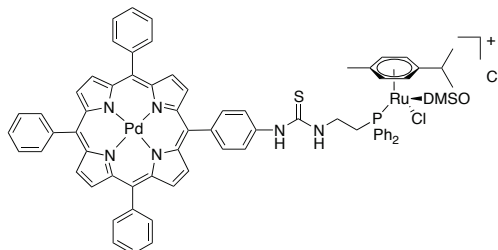


Figure 167 : Structure de l'adduit de DMSO du composé 108.

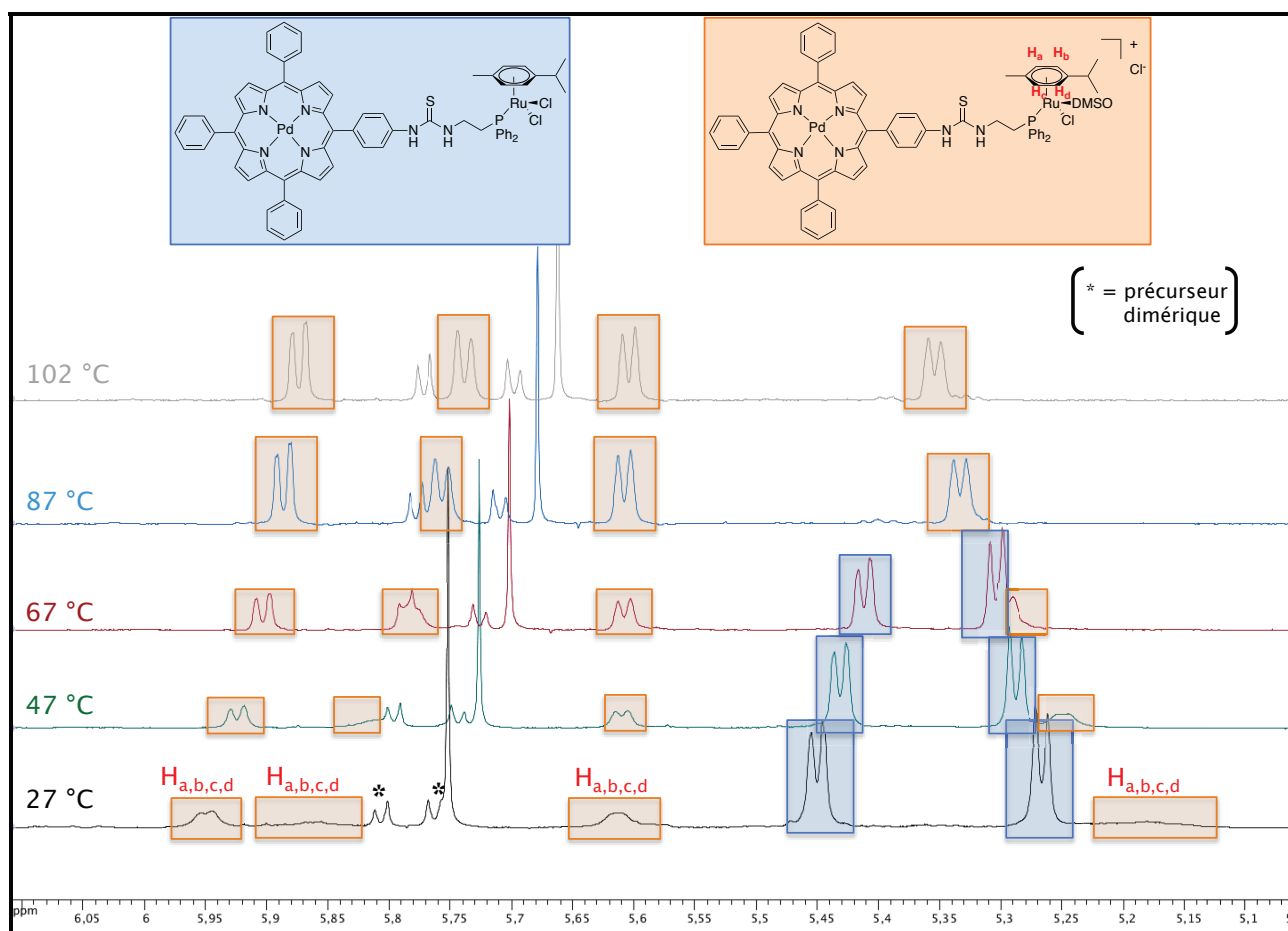


Figure 168 : Variation de température du composé **108** par analyse RMN ^1H (600,23 MHz, DMSO-d_6).

Le DMSO est un solvant très coordinant et peut substituer les atomes de chlore porté par le ruthénium. Si un atome seul de chlore est substitué, on obtient un complexe chiral cationique de ruthénium. Cette chiralité différencie chaque proton de l'arène du ruthénium, conduisant à des protons diastéréoisotopes : H_a , H_b , H_c et H_d . À 27 °C, 75% de composé **108** et 25% de son adduit de DMSO ont été observés. Le système H_a , H_b , H_c et H_d se situe à $\delta = 5,95, 5,87, 5,62$ et $5,18$ ppm. Les doublets caractéristiques des protons de l'arène du composé **108** apparaissent à $\delta = 5,45$ et $5,27$ ppm. L'élévation de la température entraîne une meilleure définition de la multiplicité des protons H_a , H_b , H_c et H_d . De même, plus la température augmente, plus l'intensité de ces protons croît et parallèlement l'intensité des protons de l'arène du complexe **108** diminue. Par conséquent, à 87 °C, seuls les protons H_a , H_b , H_c et H_d ont été observés, intégrant chacun pour un proton. Ces résultats indiquent qu'à 87 °C, il y a 100% de l'adduit de DMSO du composé **108**. L'augmentation de la température favorise donc logiquement la formation de cet adduit.

Pour le complexe d'osmium, les observations spectrales à 27 °C sont identiques à celles du complexe de ruthénium. L'adduit de DMSO est également identifié.

Le complexe d'or est synthétisé de la même manière que les complexes de ruthénium et d'osmium en mettant en solution le ligand phosphine **106** et le précurseur d'or $[\text{Au}(\text{tht})\text{Cl}]$ **66** dans le dichlorométhane à température ambiante (Schéma 72). Le complexe bimétallique est obtenu quantitativement.

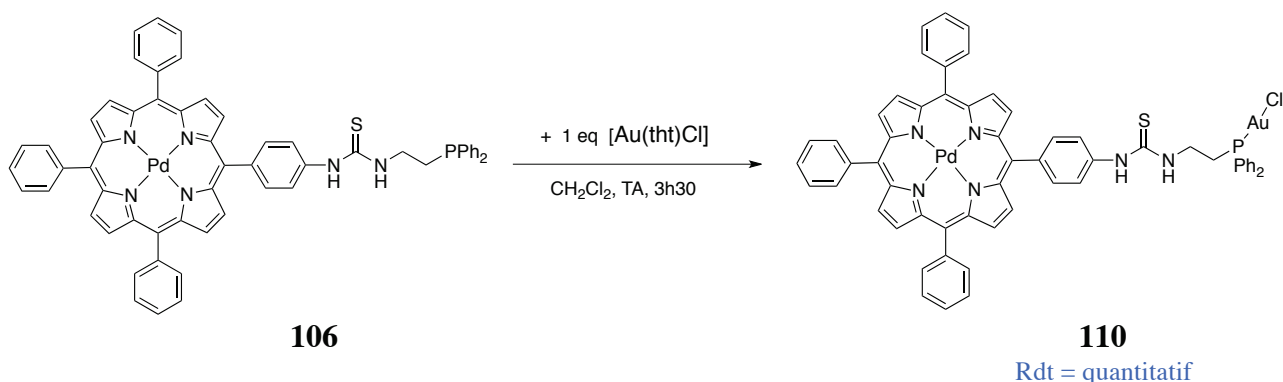


Schéma 72 : Complexation de la porphyrine palladium phosphine 106 à l'or (110).

La formation du complexe d'or **110** a été mise en évidence par analyse de spectrométrie de masse haute résolution MALDI-TOF (Figure 169). Le spectre a montré la présence d'un amas isotopique correspondant au composé sans le soufre et le chlore $[\text{M}-\text{Cl}-\text{S}]^+$ à $m/z = 1171,05$ Da. Un signal à $m/z = 1236,14$ Da est également observé pour le composé $[\text{M}]^+$ ainsi qu'à $m/z = 1201,16$ Da correspondant au composé avec perte d'un chlorure $[\text{M}-\text{Cl}]^+$. Comme pour les analyses de masse du composé **104**, la perte du soufre est due aux conditions d'ionisation par MALDI-TOF.

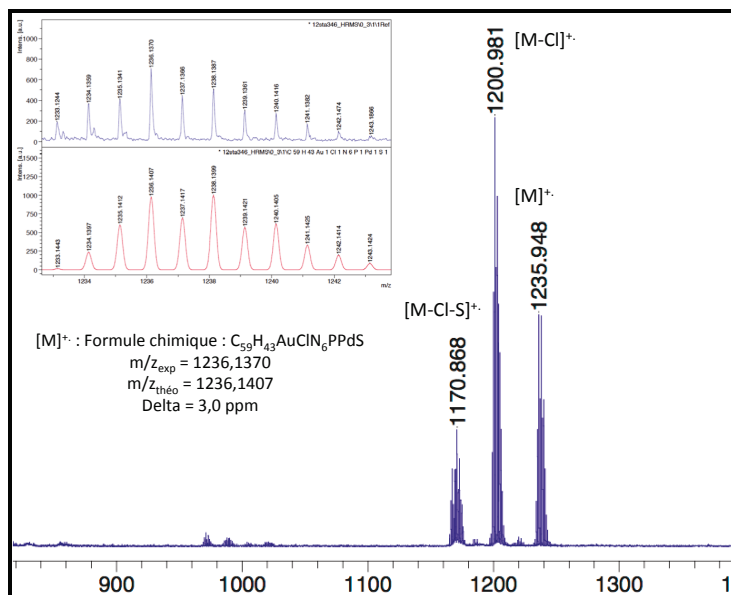


Figure 169 : Analyse de spectrométrie de masse haute résolution MALDI-TOF du composé 110.

La structure et la pureté du composé **110** ont été identifiées par analyse RMN ^{31}P et ^1H dans $\text{DMSO}-d_6$ à 300 K (Figure 170). Sur le spectre RMN ^1H , l'observation d'un déblindage des protons des CH_2 en α et β de la fonction thiourée et des protons aromatiques relatif à la phosphine (de $\delta = 2,56$ à $3,26$ ppm, de $\delta = 3,73$ à $3,96$ ppm et de $\delta = 7,44$ - $7,36$ à $7,91$ - $7,74$ ppm respectivement) indiquent la formation de la liaison phosphore-or. De même, la différence significative du déplacement chimique du signal du phosphore correspondant au ligand libre (singulet à $\delta = -21,7$ ppm) et au complexe d'or (singulet à $\delta = 24,9$ ppm) en analyse RMN ^{31}P confirment la formation du complexe d'or.

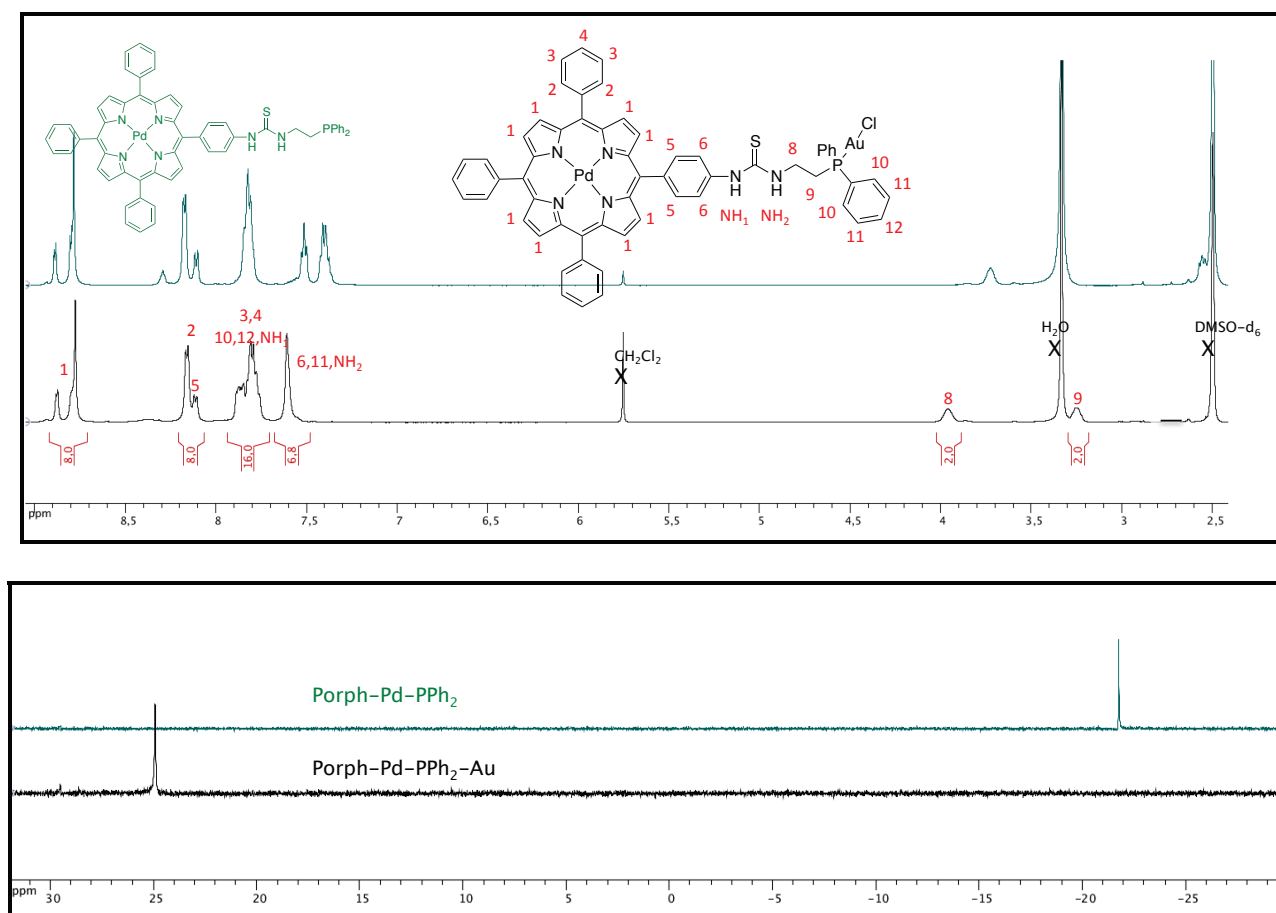


Figure 170 : Spectres RMN ^1H et ^{31}P du composé 110 (500,13 MHz, DMSO- d_6 , 300 K).

Toutes les étapes ont été optimisées afin d'obtenir un excellent rendement global : 60% pour les 6 étapes.

II.3.5.2 Du ligand porphyrine phosphine base libre

La complexation du ligand porphyrine phosphine base libre a été réalisée avec les mêmes dérivés organométalliques que précédemment et dans des conditions identiques.

Le ligand porphyrinique **107** et les précurseurs métalliques ont été mis en solution dans du dichlorométhane distillé à température ambiante durant plusieurs heures (Schéma 73). Les réactions ont été effectuées en boîte à gants.

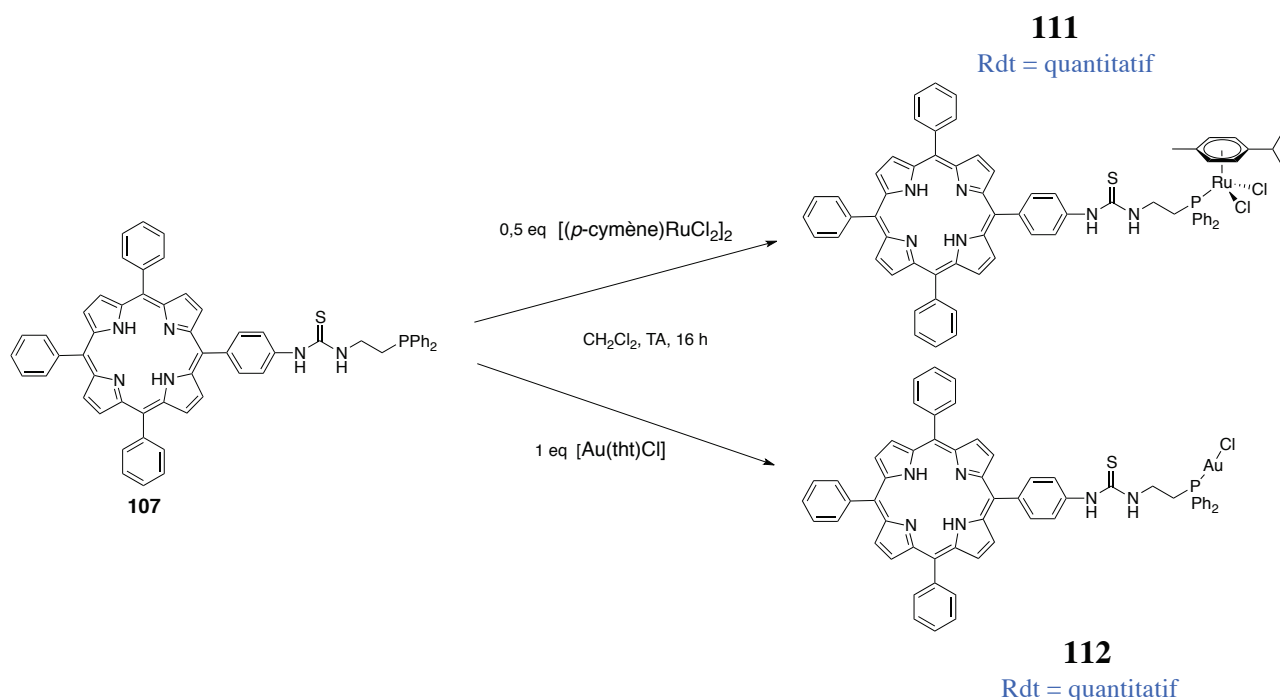


Schéma 73 : Complexation de la porphyrine base libre phosphine 107 au ruthénium et à l'or (111 et 112 respectivement).

La formation des complexes **111** et **112** a été mise en évidence par plusieurs techniques d'analyse. La spectrométrie de masse haute résolution MALDI-TOF indique la présence du complexe avec perte de deux chlorures à $[M-HCl-Cl]^+$ à $m/z = 1135,32$ Da pour le dérivé du ruthénium (Figure 171). Pour le complexe d'or, un amas isotopique correspondant au produit protonné à $m/z = 1133,11$ Da et un autre amas relatif au complexe avec perte d'un chlorure $[M-Cl]^+$ à $m/z = 1097,29$ Da ont été observés.

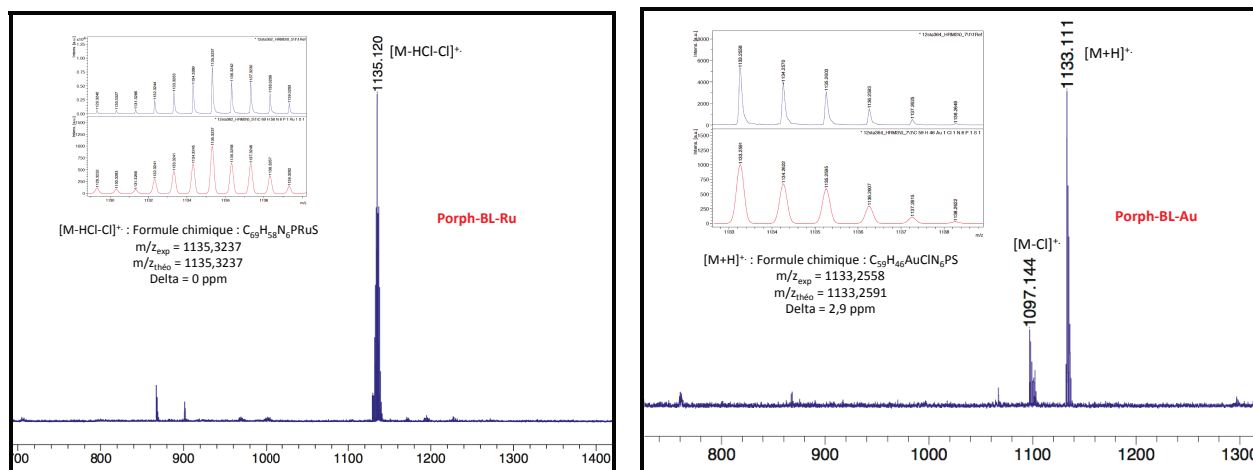


Figure 171 : Analyses de spectrométrie de masse haute résolution MALDI-TOF des composés 111 et 112.

Ces complexes ont été également caractérisés par spectroscopie RMN ³¹P et ¹H dans le DMSO-d₆ à 300 K (Figure 172 et Figure 173). En RMN ³¹P, le déplacement chimique du signal phosphore correspondant au ligand porphyrinique libre se situe à δ = - 21,6 ppm, à δ = 19,9 ppm pour le complexe de ruthénium **111** et à δ = 25,0 ppm pour le complexe d'or **112**. On note également l'absence de pic d'oxydation aux environs de δ = 30 ppm. Les spectres ¹H des complexes de ruthénium **111** et d'or **112** sont compatibles avec les structures proposées. Aucune trace du précurseur organométallique [(*p*-cymène)RuCl₂]₂ **61** et de la porphyrine phosphine **107** n'a été

observée. Ici, seul le spectre du dérivé de ruthénium **111** a été présenté. Les déplacements chimiques observés pour les complexes de ruthénium et d'or **111** et **112** respectivement avec une porphyrine base libre sont identiques à ceux de la porphyrine métallée au palladium **108** et **110**.

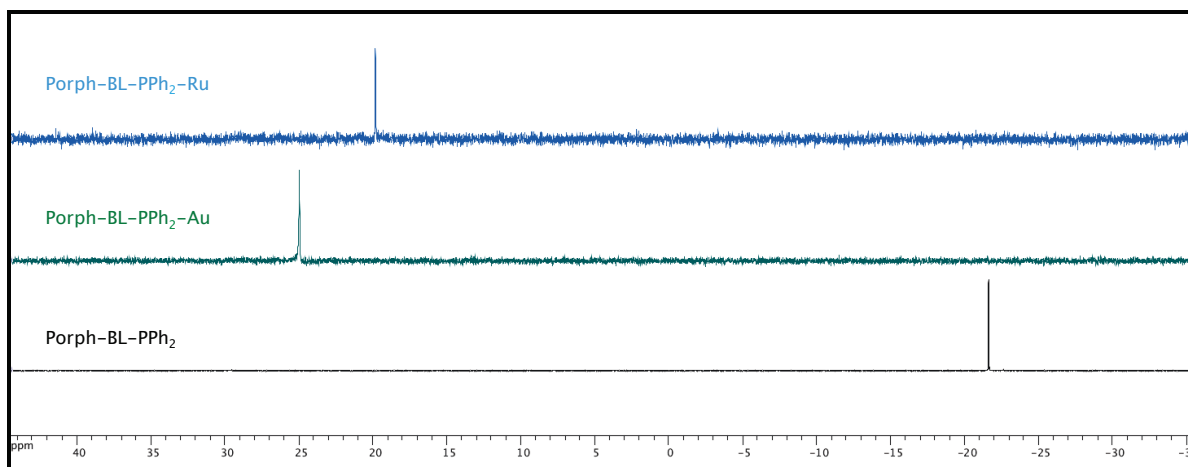


Figure 172 : Superposition des spectres RMN ^{31}P des deux complexes et du ligand phosphine libre (202,5 MHz, DMSO- d_6 , 300 K).

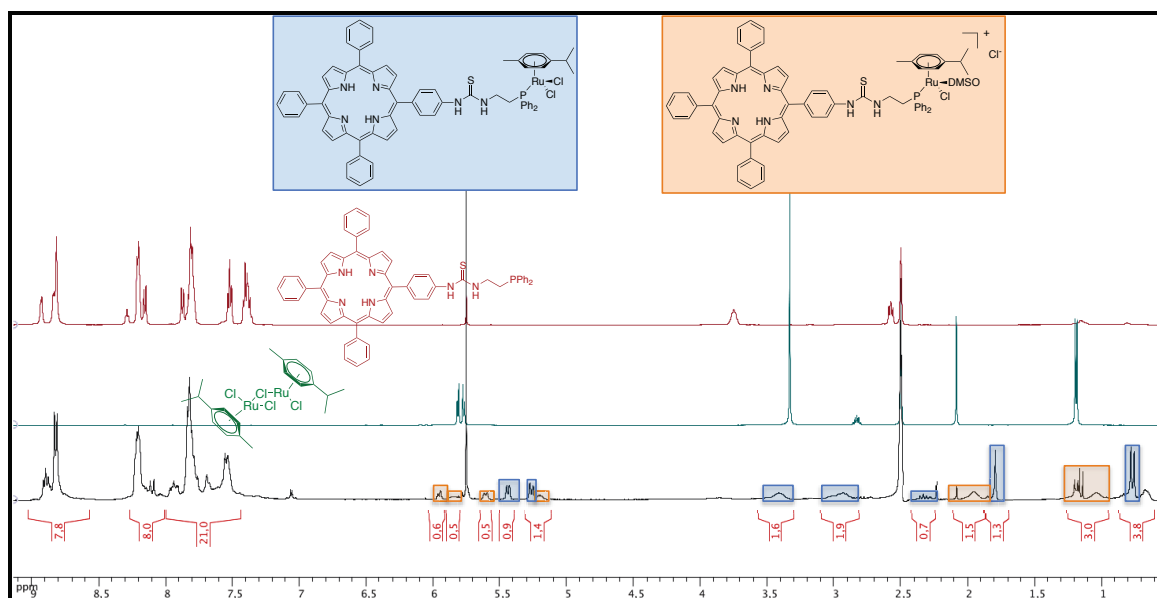


Figure 173 : Superposition des spectres RMN ^1H des précurseurs et de leur complexe correspondant **111** (500,13 MHz, DMSO- d_6 , 300 K).

De plus, sur le spectre RMN ^1H du complexe monométallique **111**, l'adduit de DMSO est également observé. Comme pour le dérivé bimétallique à base de porphyrine palladiée **108**, la formation de cet adduit a été confirmée par RMN à température variable dans le DMSO- d_6 . La substitution du chlore par le DMSO a également conduit au complexe de ruthénium cationique correspondant. Il est caractérisé par la présence de quatre protons diastéréoisotopes H_a , H_b , H_c et H_d sur l'arène du ruthénium. À 27 °C, 70% de composé **111** et 30% de son adduit de DMSO ont été observés. Le système H_a , H_b , H_c et H_d se situe à $\delta = 5,95$, $5,85$, $5,61$ et $5,20$ ppm. Les doublets caractéristiques des protons de l'arène du composé **111** se trouvent à $\delta = 5,44$ et $5,26$ ppm. Les déplacements chimiques de ces protons se situent exactement aux mêmes déplacements que ceux du composé **108**. À 87 °C, seuls les signaux des protons H_a , H_b , H_c et H_d ont été observés, intégrant chacun pour un proton. Ces résultats indiquent qu'à 87 °C, il y a 100% de l'adduit de DMSO du composé **111**. À 102 °C, une disparition de la totalité des pics entre $\delta = 5,00$ et $6,00$ ppm a été

constatée, caractérisant ainsi la décooordination complète de l'arène du ruthénium de l'adduit de DMSO.

Dans le but de savoir si il y a une possibilité que cet adduit se forme de façon quantitative à 300 K, un suivi RMN ^1H du composé **111** dans le DMSO- d_6 a été réalisée sur plusieurs jours (Figure 174).

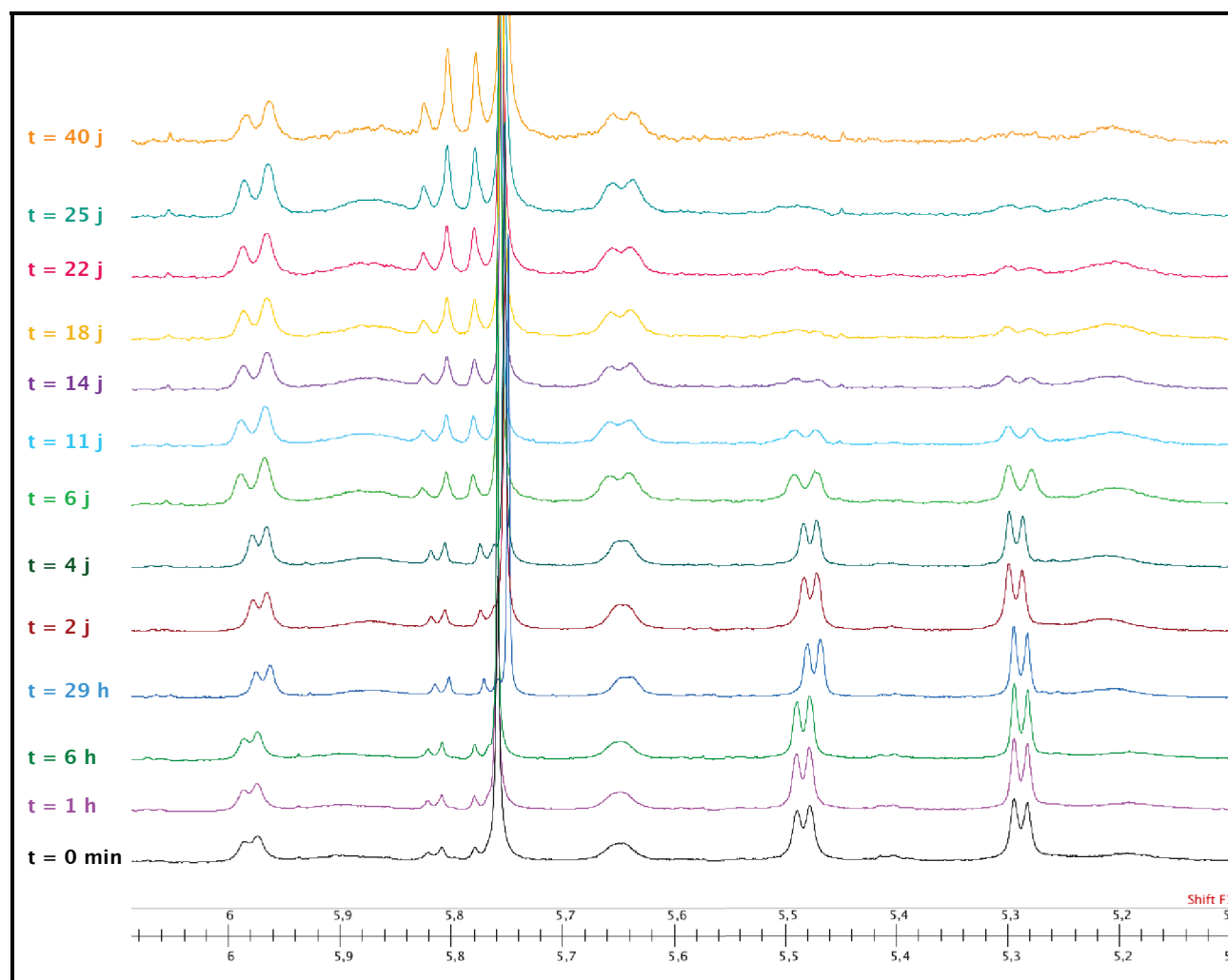


Figure 174 : Suivi du composé 111 dans DMSO- d_6 sur plusieurs jours à 300 K (300,13 MHz, DMSO- d_6 , 300 K).

Les analyses spectroscopiques RMN ^1H du composé **111** dans le DMSO- d_6 à 300 K ont montré que le complexe évolue également à température ambiante pour conduire à l'adduit DMSO cationique mais avec une cinétique beaucoup plus lente. Après 40 j, les doublets relatifs aux noyaux d'hydrogène de l'arène du ruthénium du complexe monométallique **111** à $\delta = 5,44$ ppm et $\delta = 5,26$ ppm ont disparu. Seuls les quatre protons diastéréisotopes intégrant chacun pour un proton sont observés, indiquant ainsi la présence seule de l'adduit de DMSO. En parallèle, un suivi RMN ^1H du précurseur dimérique de ruthénium $[(p\text{-cymène})\text{RuCl}_2]_2$ **61** dans les mêmes conditions que le composé **111** a été effectué. Ce suivi a permis de comparer les résultats obtenus du complexe porphyrinique avec ceux de son précurseur. Après 40 j, aucun pic correspondant à l'adduit de DMSO du complexe $[(p\text{-cymène})\text{RuCl}_2]_2$ **61** n'a été constaté. Le spectre initialement obtenu est identique au spectre après 40 j, indiquant ainsi la stabilité du précurseur dans le DMSO- d_6 .

La synthèse des systèmes porphyriniques bases libres envisagés a été optimisée avec un bon rendement global : 48% pour les 5 étapes.

III. ÉTUDES PHOTOPHYSIQUES / PHOTOCIMIQUES

De la même manière que les théranostiques comprenant des entités BODIPYs (chapitre n°2), nous avons développé de nouveaux complexes à base de porphyrines. Ces porphyrines sont utilisées pour réaliser de l'imagerie optique. Pour cela, des études photophysiques sont effectuées afin de déterminer les propriétés d'absorption et de fluorescence des complexes synthétisés.

III.1 Propriétés photophysiques des composés porphyriniques bases libres

III.1.1 Propriétés d'absorption

Les porphyrines sont des chromophores dont les bandes d'absorption caractéristiques sont situées dans le visible et le proche UV. Leurs spectres d'absorption sont constitués d'une bande intense vers 400 nm ($\epsilon = 10^5 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) appelée bande de Soret et de quatre bandes d'absorption dans la zone du visible (500-700 nm) de plus faible intensité, appelées bandes Q, pour les porphyrines bases libres. Les bandes Q sont responsables de la coloration des porphyrines. Toutes les bandes d'absorption résultent de transitions $\pi \rightarrow \pi^*$. Cependant, la bande de Soret correspond à la transition de l'état fondamental S_0 vers le deuxième état singulet excité S_2 tandis que les bandes Q correspondent à des transitions de l'état fondamental S_0 vers le premier état singulet excité S_1 .

Les spectres d'absorption UV-visible du ligand PPh_2 **107** et des complexes de ruthénium et d'or **111** et **112** respectivement ont été réalisés dans le THF sec et distillé à 298 K. Les différentes valeurs d'absorptivité ϵ ont été calculées pour chaque bande (Tableau 10). On peut noter que pour la bande de Soret, les coefficients d'extinction moléculaire des complexes sont plus faibles que le ligand correspondant.

Composés	$\lambda_{\text{max}}, \text{nm} (\epsilon, \times 10^3 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}), 298 \text{ K, THF}$				
	Bande de Soret	Bandes Q			
Porph-BL- PPh_2 107	418 (414,4)	514 (18,6)	549 (9,3)	592 (5,3)	648 (4,2)
Porph-BL-Ru 111	418 (318,4)	515 (18,6)	550 (9,9)	592 (5,5)	648 (4,4)
Porph-BL-Au 112	418 (355,6)	514 (18,1)	549 (9,2)	592 (5,2)	651 (4,1)

Tableau 10 : Données UV-visible des différents composés porphyriniques **107**, **111** et **112**.

Pour la comparaison, les spectres d'absorption UV-visible du ligand porphyrinique PPh_2 **107** et des complexes de ruthénium **111** et d'or **112** ont été regroupés sur le même graphique (Figure 175). L'absorption est peu affectée par la complexation puisque les maxima d'absorption de la bande de Soret et des bandes Q des différents composés sont situés à la même longueur d'onde ou ne sont déplacés que de 1-2 nm, indiquant que la porphyrine est indépendante au sein des complexes.

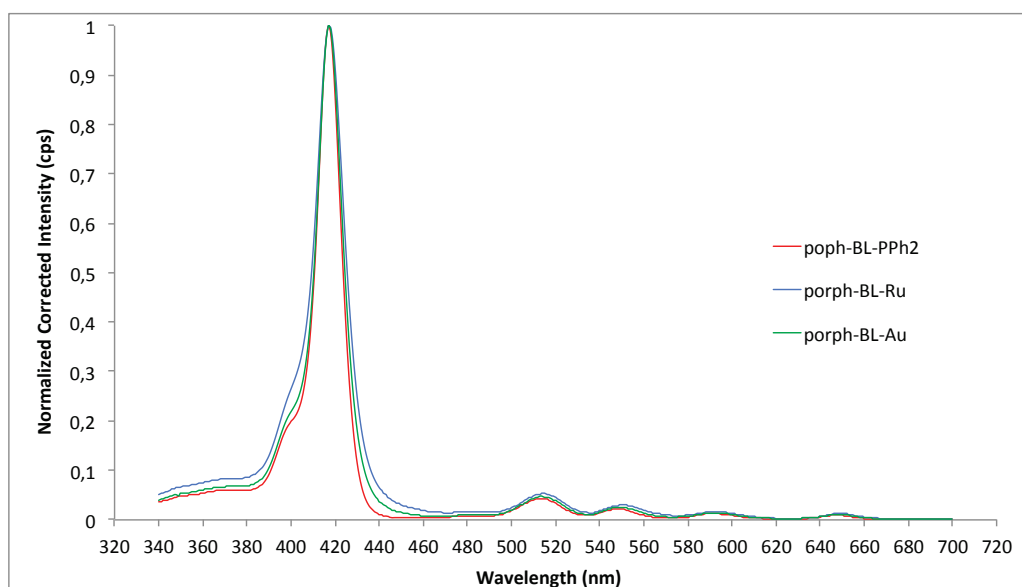


Figure 175 : Superposition des spectres d'absorption normalisés des différents composés **107**, **111** et **112** à 298 K.

III.1.2 Spectres d'émission et d'excitation

Les études d'émission et d'excitation des composés **107**, **111** et **112** ont été réalisées dans le 2-MeTHF distillé à 298 K (Figure 176) et à 77 K (Figure 177). Les solutions ont été préparées sous boîte à gants. Elles ont été excitées à la même longueur d'onde, à $\lambda_{exc} = 510$ nm, bande correspondant à une transition électronique centrée sur la porphyrine.

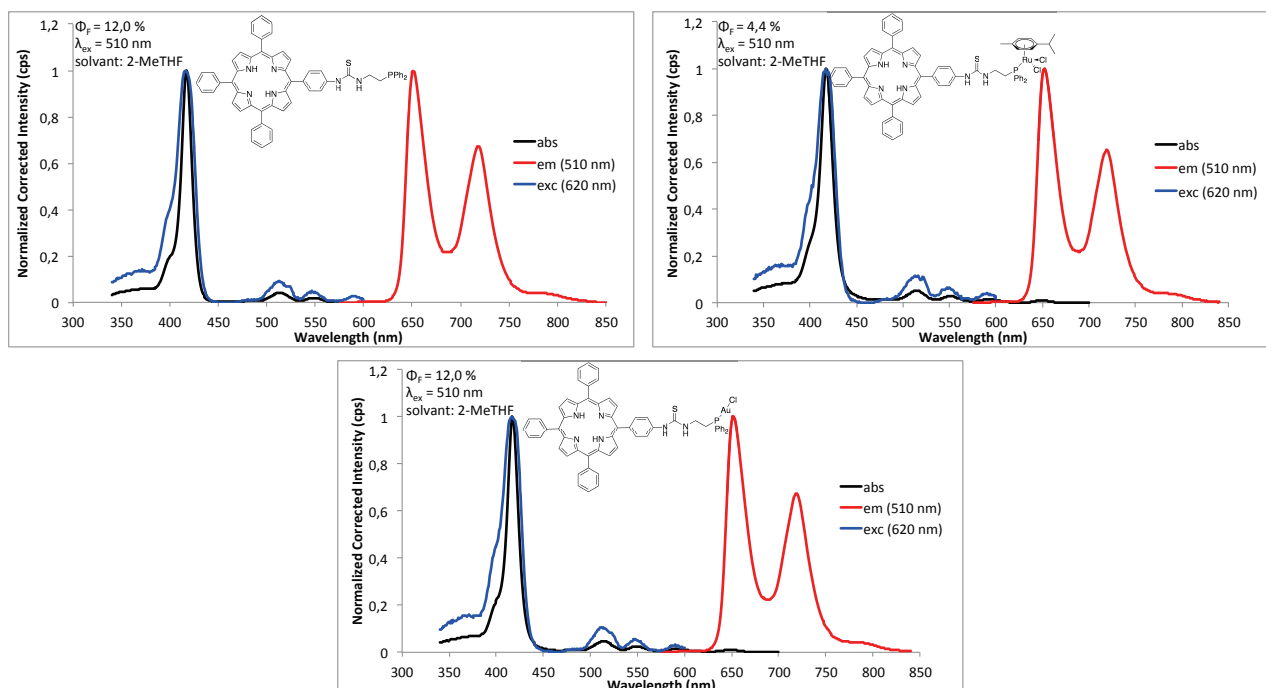


Figure 176 : Spectres d'absorption (noir), d'émission (rouge, $\lambda_{exc} = 510$ nm) et d'excitation (bleu, $\lambda_{em} = 620$ nm) normalisés des composés **107**, **111** et **112** dans le 2-MeTHF à 298 K.

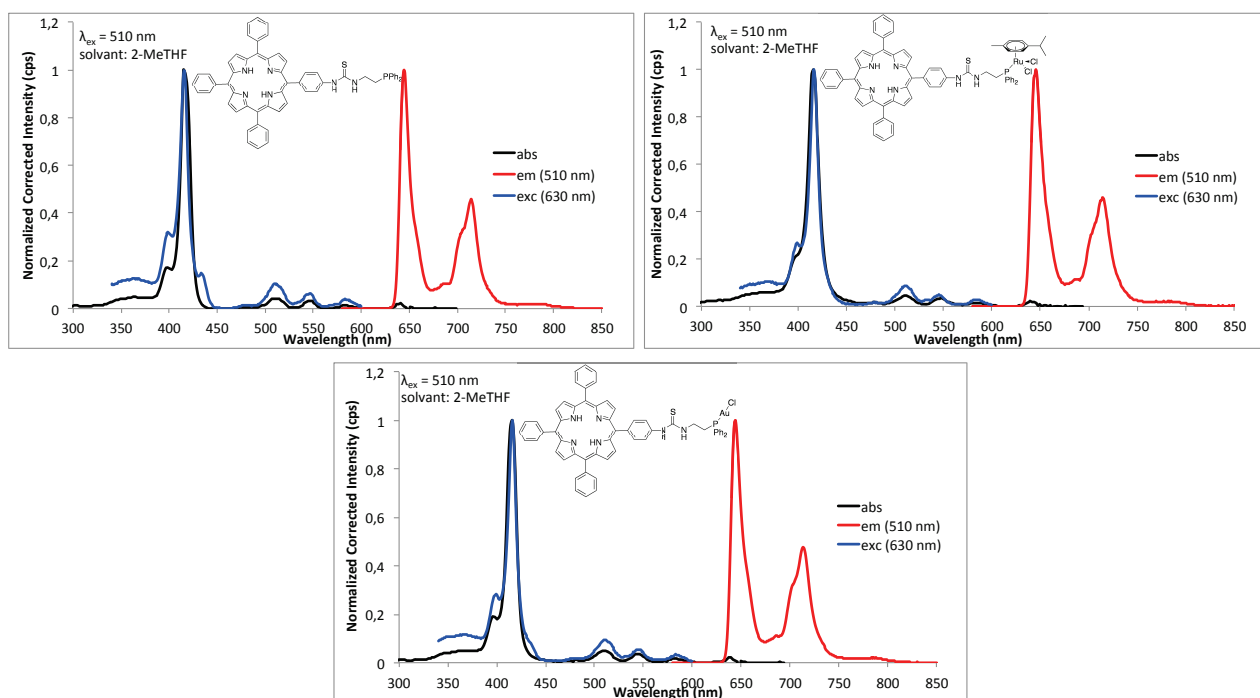


Figure 177 : Spectres d'absorption (noir), d'émission (rouge, $\lambda_{em} = 510$ nm) et d'excitation (bleu, $\lambda_{exc} = 630$ nm) normalisés des composés **107**, **111** et **112** dans le 2-MeTHF à 77 K.

Dans ces différentes conditions expérimentales, les spectres de fluorescence des dérivés porphyriniques bases libres présentent deux bandes centrées vers 650 nm et 720 nm. Ces bandes sont caractéristiques de l'émission des systèmes porphyriniques. On note que les spectres d'excitation sont superposables aux spectres d'absorption UV-visibles à 298 K et à 77 K, ce qui signifie qu'une seule espèce est présente à l'état fondamental. En revanche, si la solution contenait plusieurs espèces ou si une seule espèce était présente sous plusieurs formes à l'état fondamental (agrégats, complexes, etc.), les spectres d'excitation et d'absorption ne seraient plus superposables. De plus, une meilleure définition est observée sur les spectres à 77 K que ceux obtenus à température ambiante. Les déplacements de Stokes ont été également calculés pour chaque composé à 298 K et 77 K (Tableau 11).

Composés	Déplacements de Stokes à 298 K (cm ⁻¹)	Déplacements de Stokes à 77 K (cm ⁻¹)
Porph-BL-PPh ₂ 107	70	75
Porph-BL-Ru 111	95	120
Porph-BL-Au 112	25	100

Tableau 11 : Déplacements de Stokes à 298 K et 77 K.

Les durées de vie des états excités (à 298 K et 77 K), la cinétique de transfert d'électron k_{et} (à 298 K et 77 K) ainsi que les rendements quantiques d'émission (à 298 K) ont été déterminés (Tableau 12).

Les rendements quantiques des différents composés ont été mesurés dans le 2-MeTHF. Les échantillons ont été préparés sous boîte à gants sous atmosphère d'argon et la concentration des échantillons a été ajustée de manière à obtenir une absorbance de 0,05 à la longueur d'onde d'excitation. Le calcul du rendement quantique a été effectué en utilisant la tétraphénylporphyrine base libre (H₂TPP) comme référence ($\Phi_F = 0,11$ dans le 2-MeTHF, $\lambda_{ex} = 510$ nm). Toutes les valeurs de Φ_F sont corrigées à partir de l'indice de réfraction des solvants. Les durées de vie ont été mesurées à une longueur d'onde d'émission $\lambda_{em} = 650$ nm.

Composés	λ_{max} à 298 K (nm)	τ_F à 298 K (ns)	Φ_F à 298 K (%)	λ_{max} à 77 K (nm)	τ_F à 77 K (ns)
Porph-BL-PPh ₂ 107	651	14,5	12,0	644	10,8
Porph-BL-Ru 111	652	10,4	4,4	645	9,5
Porph-BL-Au 112	652	14,6	12,0	644	11,9

Tableau 12 : Données photophysiques dans le 2-MeTHF à 298 K et à 77 K.

Les durées de vie de l'ordre de la nanoseconde et les faibles déplacements de Stokes (24-95 cm⁻¹) confirment que la luminescence observée est de la fluorescence. Ces données photophysiques sont caractéristiques de l'état singulet fluorescent du fragment porphyrinique et peuvent se comparer favorablement à celles de la H₂TPP **93** avec $\Phi_F = 0,13$ et $\tau_F = 15,7$ ns dans le benzène dégazé à température ambiante.³⁵⁷

Comme dans le cas des complexes de BODIPYs, nous observons une désactivation du rendement quantique de fluorescence avec le dérivé ruthénium. Cette désactivation sera expliquée par la suite (III.3).

III.2 Propriétés photophysiques des composés porphyriniques de palladium

III.2.1 Propriétés d'absorption

Les spectres d'absorption des composés porphyriniques de palladium sont similaires aux spectres de leurs homologues non palladiés. Toutefois, les bandes Q ne sont plus qu'au nombre de deux entre 500 et 560 nm, ce qui est caractéristique des métalloporphyrines.²¹ Dans la région 350-650 nm, ces bandes représentent les transitions singulet-singulet entre l'état fondamental et les états excités singulet, S₂ pour la bande de Soret et S₁ pour les bandes Q.

Les spectres d'absorption UV-visible du ligand PPh₂ **106** et des complexes de ruthénium **108**, d'osmium **109** et d'or **110** ont été réalisés dans le THF distillé à 298 K. Les différentes valeurs d'absorptivité ϵ ont été calculées pour chaque bande (Tableau 13). La bande de Soret est peu affectée par la métallation de la cavité porphyrinique.

Composés	λ_{max} , nm (ϵ , $\times 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$), 298 K, THF		
	Bande de Soret	Bandes Q	
Porph-Pd-PPh ₂ 106	416 (303,0)	523 (27,5)	554 (2,4)
Porph-Pd-Ru 108	416 (248,9)	523 (26,8)	554 (2,6)
Porph-Pd-Os 109	416 (249,2)	524 (26,4)	554 (2,5)
Porph-Pd-Au 110	416 (275,6)	523 (25,6)	553 (2,2)

Tableau 13 : Données UV-visible des différents composés porphyriniques 106, 108, 109 et 110.

Les spectres d'absorption UV-visible du ligand porphyrinique **106** et des complexes **108**, **109** et **110** ont été regroupés sur le même graphique (Figure 178). L'absorption n'est pas affectée par la

complexation au ruthénium, osmium et or puisque les maxima d'absorption de la bande de Soret et des bandes Q des différents composés sont situés à la même longueur d'onde ou ne sont déplacés que de 1 nm, indiquant que la porphyrine est indépendante au sein des complexes.

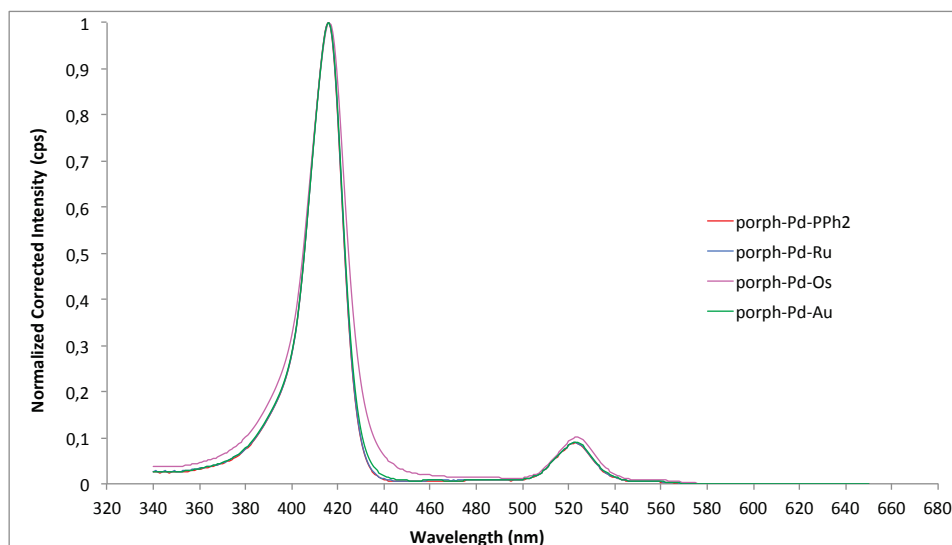


Figure 178 : Superposition des spectres d'absorption normalisés des différents composés 106, 108, 109 et 110 à 298 K.

III.2.2 Spectres d'émission et d'excitation

Les études d'émission et d'excitation des composés 106, 108, 109 et 110 ont été réalisées dans le 2-MeTHF distillé à 298 K (Figure 179) et à 77 K (Figure 180). Les solutions ont été préparées sous boîte à gants. Elles ont été excitées à la même longueur d'onde, à $\lambda_{exc} = 510$ nm, bande correspondant à une transition électronique centrée sur la porphyrine. L'émission s'étend du visible au proche infrarouge.

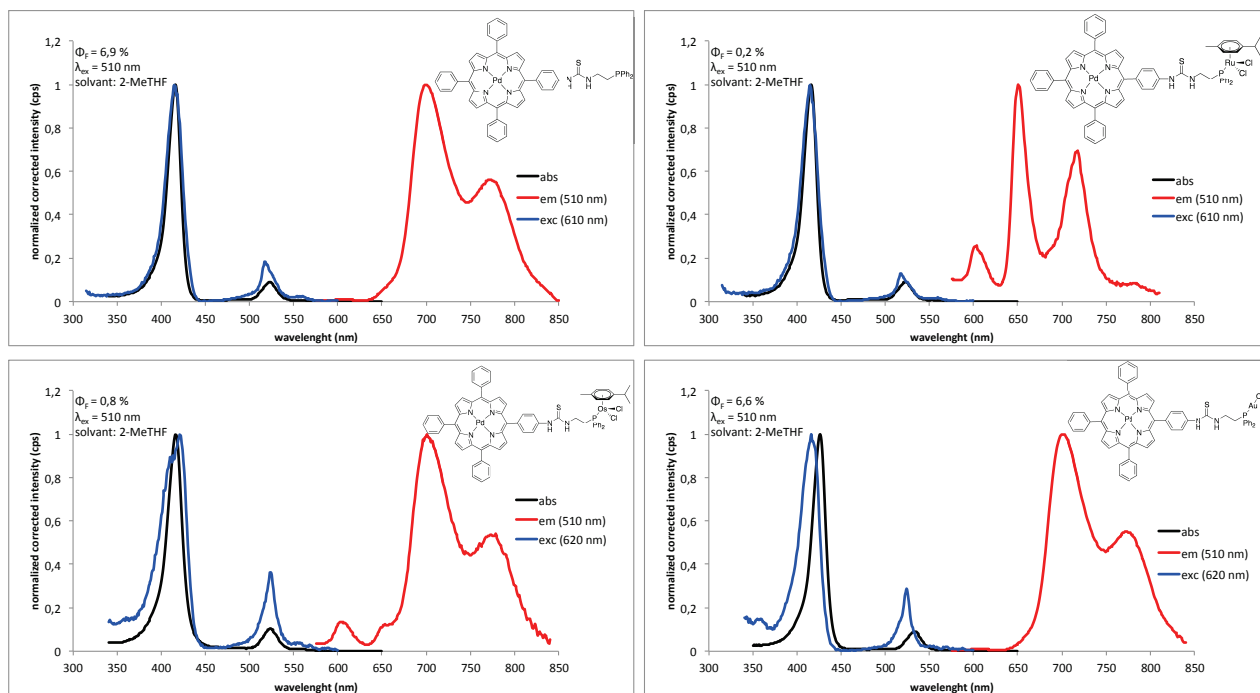


Figure 179 : Spectres d'absorption (noir), d'émission (rouge, $\lambda_{exc} = 510$ nm) et d'excitation (bleu, $\lambda_{em} = 620$ nm) normalisés des composés 106, 108, 109 et 110 dans le 2-MeTHF à 298 K.

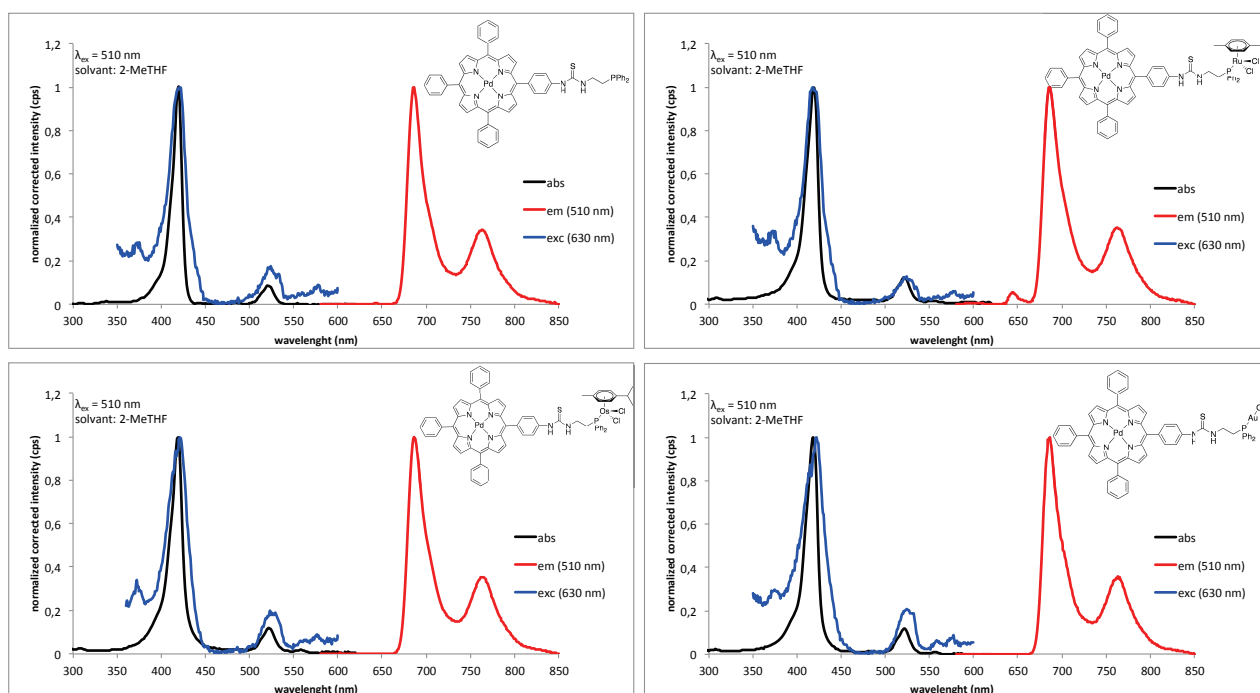


Figure 180 : Spectres d'absorption (noir), d'émission (rouge, $\lambda_{exc} = 510$ nm) et d'excitation (bleu, $\lambda_{em} = 630$ nm) des composés 106, 108, 109 et 110 dans le 2-MeTHF à 77 K.

Les spectres à 77 K sont, comme précédemment décrit avec les porphyrines bases libres, mieux résolus que ceux à température ambiante. Les spectres d'émission à 77 K et à température ambiante sous argon montrent deux bandes d'émission centrées vers 700 et 780 nm. Ces longueurs d'onde correspondent à la phosphorescence des porphyrines de palladium.³⁵⁸ À 298 K, on observe une bande d'émission plus ou moins visible suivant les composés aux environs de 600 nm qui pourrait correspondre à la fluorescence de la porphyrine palladium. On note que les spectres d'excitation sont superposables aux spectres d'absorption UV-visibles à 298 K et à 77 K, ce qui signifie qu'une seule espèce est présente à l'état fondamental. Les déplacements de Stokes ont été également calculés pour chaque composé à 298 K et 77 K (Tableau 14).

Composés	Déplacements de Stokes à 298 K (cm ⁻¹)	Déplacements de Stokes à 77 K (cm ⁻¹)
Porph-Pd-PPh ₂ 106	3760	3450
Porph-Pd-Ru 108	2670	3470
Porph-Pd-Os 109	3790	3340
Porph-Pd-Au 110	3840	3440

Tableau 14 : Déplacement de Stokes à 298 K et à 77 K.

Les durées de vie des états excités responsables de cette luminescence ont été mesurées à 298 K et à 77 K et les rendements quantiques d'émission ont été déterminés à 298 K (Tableau 15). Les rendements quantiques des différents composés ont été mesurés dans les mêmes conditions que les porphyrines bases libres et avec la même référence (TPP base libre).

Composés	λ_{\max} à 298 K (nm)	τ_p à 298 K (μ s)	ϕ_p à 298 K (%)	λ_{\max} à 77 K (nm)	τ_p à 77 K (μ s)
Porph-Pd-PPh ₂ 106	700	101,0	6,9	685	1335
Porph-Pd-Ru 108	650	8,9	0,2	686	1160
Porph-Pd-Os 109	701	28,5	0,8	686	1352
Porph-Pd-Au 110	702	190	6,6	686	1314

Tableau 15 : Données photophysiques dans le 2-MeTHF à 298 K et à 77 K.

Les durées de vie élevées (de l'ordre de la milliseconde à 77 K) et les déplacements de Stokes importants indiquent clairement que la luminescence observée est de la phosphorescence.

Dans le cas du palladium, l'état S_1 dispose d'une nouvelle voie de désexcitation puisque la présence du palladium favorise le croisement intersystème et donc le peuplement de l'état excité triplet T_1 (Figure 181). Ceci est dû au couplage spin-orbite du métal lourd. Ainsi, la fluorescence de la porphyrine de palladium est fortement diminuée, voire absente, au profit de sa phosphorescence.³⁵⁸ L'état T_1 peut également se désexciter de manière non radiative.

Le long temps de vie des états triplets les rend particulièrement sensibles à l'oxygène. Un milieu aéré contient de l'oxygène dont la forme la plus stable est la forme triplet. De ce fait, les porphyrines de palladium sont sensibles à l'oxygène qui éteint leur phosphorescence (Figure 181).³⁵⁸⁻³⁶³ Dans le cas du couple porphyrine de palladium- O_2 , l'état triplet excité T_1 de la porphyrine va transférer son énergie à l'oxygène triplet fondamental et former ainsi de l'oxygène singulet. Cette dernière espèce est extrêmement réactive et cette réaction est à la base de la thérapie photodynamique.³⁶⁴⁻³⁶⁶ Nos études biologiques étant réalisées à l'air, la luminescence de nos complexes peut être fortement désactivée par la présence de dioxygène. Seules les études de microscopie confocale peuvent nous indiquer si nous pouvons obtenir une image optique plus ou moins nette.

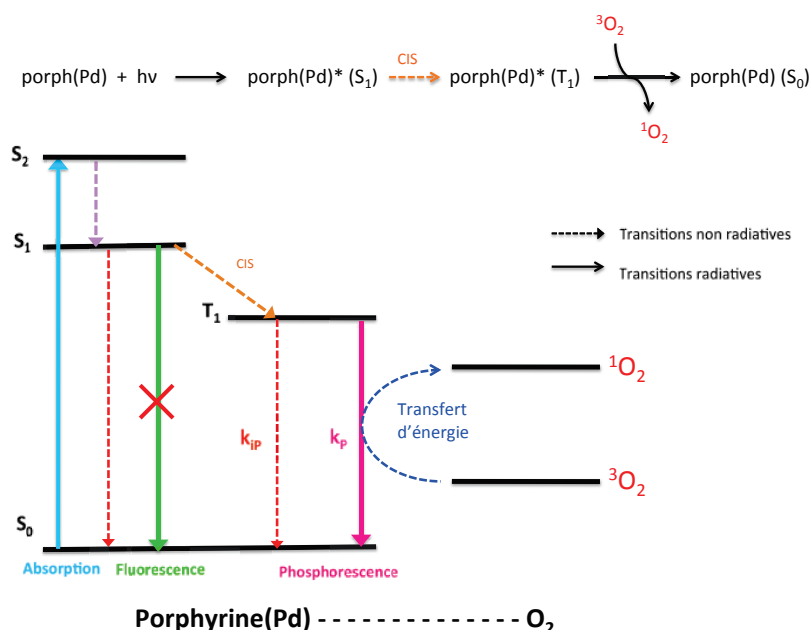


Figure 181 : Transitions mis en jeu dans une porphyrine de palladium en présence d'oxygène. D'après *The Porphyrin Handbook*.³⁶⁷

Comme dans les cas complexes BODIPYs et porphyrines bases libres, une désactivation du rendement quantique avec les dérivés du ruthénium et osmium a été observée. Contrairement aux temps de vie à 77 K des porphyrines bases libres, ceux des porphyrines palladiés ont une valeur beaucoup plus élevée par rapport à 298 K. Ce phénomène est vraisemblablement dû aux interactions fortes avec le palladium.

III.3 Explication de l'inhibition de la fluorescence des complexes à base de ruthénium et d'osmium

Comme dans le cas des BODIPYs (chapitre n°2), plusieurs mécanismes sont possibles pour expliquer la présence de l'inhibition du rendement quantique de fluorescence des complexes de ruthénium **111** et **108**, et d'osmium **109**. Pour chacun des mécanismes, cf. chapitre n°2 pour les explications théoriques.

La conversion interne

Le facteur de collision interne peut être mis en jeu dans l'inhibition de la fluorescence de ces composés. La molécule est formée de deux particules A et B reliées entre elles par un ressort (liaison) ou une série de ressorts (Figure 182). Pour l'analyse conceptuelle des vibrations moléculaires, on utilise le simple modèle de l'oscillateur harmonique.

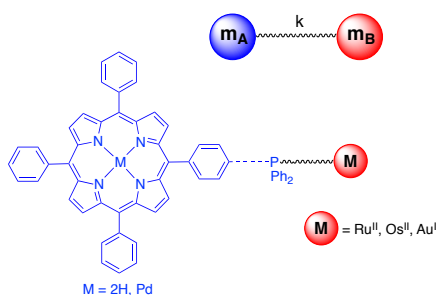


Figure 182 : Représentation de la molécule sous forme de deux particules reliées entre elles par un ressort.

Dans un état excité, la molécule se relaxe vers l'état fondamental en empruntant les niveaux vibrationnels de celle-ci. Si le fragment organométallique est lourd, comme dans le cas des complexes **111**, **108** et **109**, alors la masse réduite est plus élevée, ce qui engendre une fréquence de vibration petite et une densité d'états grande. La molécule relaxe alors plus vite. La durée de vie de l'état excité est donc plus courte. Comme pour les complexes à base de BODIPYs, l'inhibition du rendement quantique de la fluorescence des complexes cités ci-dessus ne s'explique pas par la conversion interne car il y a trop de liaisons dans le pont et les deux parties agissent quasi indépendamment.

Le passage intersystème

Comme dans le cas des BODIPYs, le couplage spin-orbite dû à la présence des métaux lourds ne peut pas être un facteur pour expliquer l'inhibition du rendement quantique des complexes cités ci-dessus puisqu'avec les complexes d'or **112** et **110**, aucune inhibition n'est observée. De même, cette inhibition par un couplage spin-orbite peut être également ôtée due à la distance très longue

(> 18 Å) entre l'entité porphyrinique et le dérivé métallique (Figure 183). Toutefois, ce couplage aurait pu être favorisé si la distance entre la porphyrine et le métal était plus courte soit par un pont de faible distance, soit par un rapprochement des deux chromophores, ce qui signifie donc que la structure des complexes est plutôt sous la forme « étalée » que repliée.

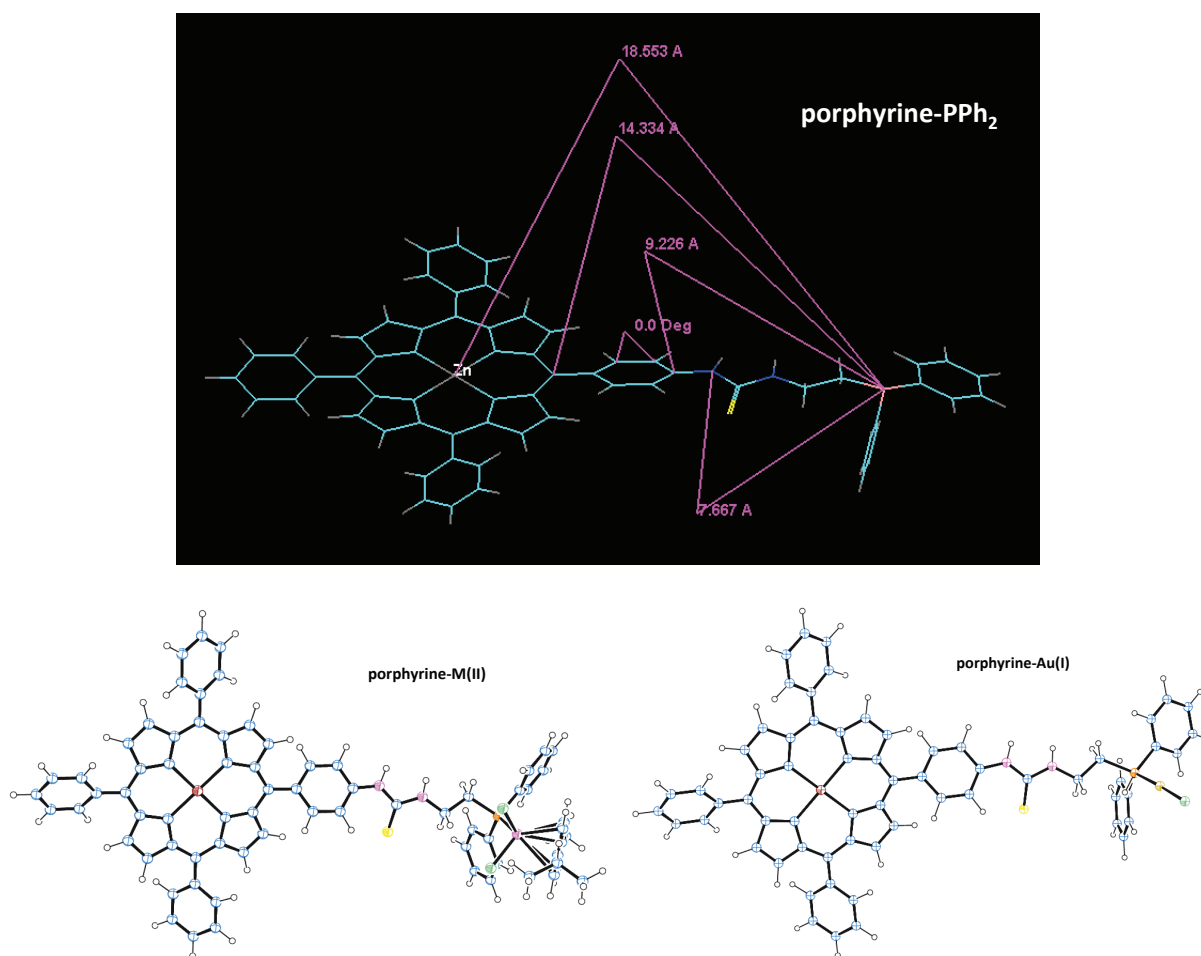


Figure 183 : Images générées des structures minimisées du ligand porphyrine-PPh₂ 107 et des complexes porphyrine-M(II) 108 et 109, porphyrine-Au(I) 110 à l'aide du programme PCModel (version 9,20).

Le transfert d'énergie

L'énergie d'excitation d'un fluorophore peut être transférée à une autre molécule, ce qui induit une inhibition de la fluorescence. Lors d'un transfert non radiatif (sans émission de photon), une interaction à courte ou longue distance entre les molécules peut se produire. À courte distance, c'est le mécanisme de Dexter ou Förster,^{18,19} et à longue distance, c'est le mécanisme de Förster qui domine.¹⁹ Pour la transition singulet-singulet, les deux mécanismes sont possibles, mais pour la transition triplet-triplet, le mécanisme de Dexter est dominant.

Les différentes explications possibles pour les transferts d'énergie par les mécanismes de Dexter et Förster dans les transitions triplet-triplet et singulet-singulet sont identiques à celles des BODIPYs. Pour les complexes à base de porphyrine palladium et pour la transition singulet-singulet, on peut ajouter à la partie BODIPY que le mécanisme de Förster est beaucoup moins envisageable étant donné qu'un effet d'atome lourd interne est observé avec le palladium, ce qui engendre un croisement intersystème induisant le passage singulet-triplet. Or, à l'état triplet, le mécanisme de Dexter est dominant.

À défaut de trouver une explication à ce phénomène, nous pouvons explorer la possibilité d'avoir une désactivation non-radiative par transfert d'électron photo-induit.

Le transfert d'électron

Comme nous l'avons vu dans les cas du BODIPYs, nous pouvons imaginer qu'un transfert d'électron entre la porphyrine et les complexes de ruthénium et d'osmium se produisent et soient donc à l'origine de l'inhibition du rendement quantique de la fluorescence ou de la phosphorescence. Une étude électrochimique a été effectuée pour déterminer si l'entité porphyrinique peut donner ou accepter un électron du dérivé du ruthénium(II). Pour cela, une étude électrochimique a été réalisée sur le dérivé triarylphosphine-ruthénium(II) **53**, la porphyrine-BL-NO₂ **94** et la porphyrine-Pd-NO₂ **96** (Figure 184).

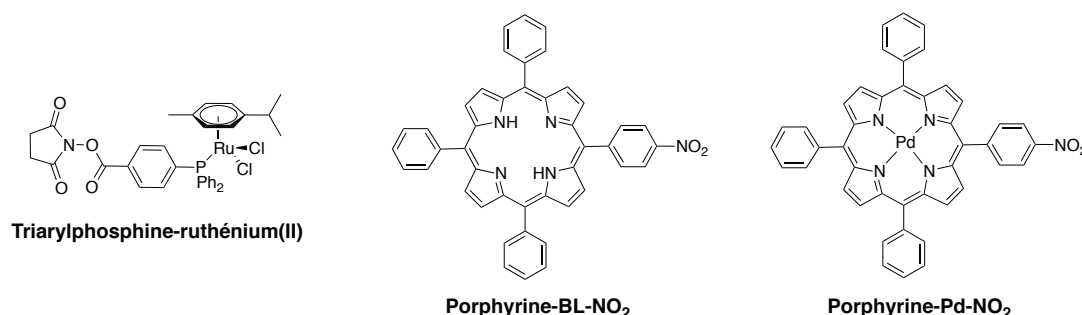


Figure 184 : Structure des composés **53**, **94** et **96** (respectivement) utilisés pour l'étude électrochimique.

Les valeurs des potentiels, données en V vs. ECS, ont été mesurées en solution dans le dichlorométhane contenant 0,1 M de TBAFPF₆ (TBAF = tributylammonium) à 20 °C (Tableau 16).

Produits	3 ^{ème} réduction	2 ^{ème} réduction	1 ^{ère} réduction	1 ^{ère} oxydation	2 ^{ème} oxydation
Porphyrine-BL-NO ₂ 94	- 1,80 ^a	≈ - 1,28 ^a	- 1,17 ^a	+ 1,05 (90) ^b	+ 1,36 (90) ^b
Porphyrine-Pd-NO ₂ 96		- 1,30 ^a	- 1,17 ^a	+ 1,15 (85) ^b	+ 1,57 (85) ^b
Triarylphosphine-Ru(II) 53	- 1,78 ^a	≈ - 1,03 ^a	≈ - 0,83 ^a	+ 1,16 (85) ^b	

Tableau 16 : Valeurs des potentiels d'oxydoréduction de la porphyrine et du dérivé du ruthénium. ^aE_{pc} système irréversible, ^bE_{1/2} système réversible, les valeurs de ΔE_p (ΔE_p = E_{pa} - E_{pc}) sont données entre parenthèse (en mV). Les potentiels ont été standardisés en utilisant du ferrocène (Fc) comme référence interne et converties à ECS : ^bE_{1/2} (Fc/Fc⁺) = + 0,44 V (ΔE_p = 85 mV) vs. ECS.

Cependant, au vue des potentiels oxydo-réduction des différents systèmes, l'apport d'énergie obtenu à l'état excité ne semble pas suffisant pour effectuer ce transfert d'électron (Figure 185).

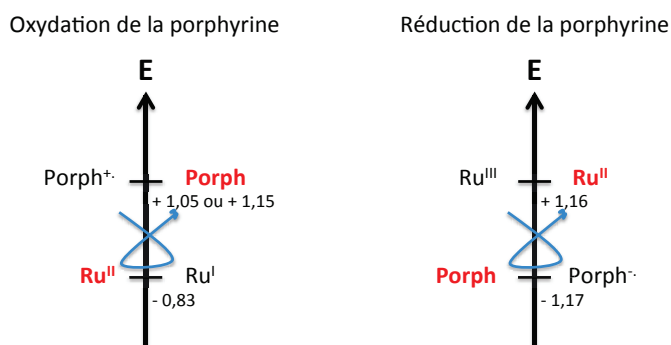


Figure 185 : Représentation des données électrochimiques à l'état fondamental.

Cependant, comme les BODIPYs, nous devons raisonner à l'état excité (Figure 186). Nous observons un spectre d'absorption à 554 nm à l'état singulet S_1 soit en valeur absolue à 2,24 eV (pour la porphyrine palladium **96**) et un spectre d'absorption à 648 nm à l'état singulet S_1 soit en valeur absolue à 1,91 eV (pour la porphyrine palladium **94**). Ceci correspond à l'apport d'énergie dont bénéficie notre système pour conduire à un phénomène red/ox dans l'état excité S_1 . Si nous considérons dans un premier temps la réduction des porphyrines et donc l'oxydation du Ru(II) en Ru(III), cela nécessite une énergie de 2,33 V ($1,16 (E_{Ox}(Ru^{III}/Ru^{II})) + 1,17 V (E_{Red}(Porph/Porph^-))$). De plus, le phénomène redox entraîne l'apparition de charge donc impose au système de se réorganiser, ce qui consomme de l'énergie. L'énergie nécessaire récupérée par irradiation lumineuse (- 0,09 eV pour la porphyrine palladium **96** et - 0,42 eV pour la porphyrine base libre **94**) ne permet pas d'obtenir une telle réorganisation.

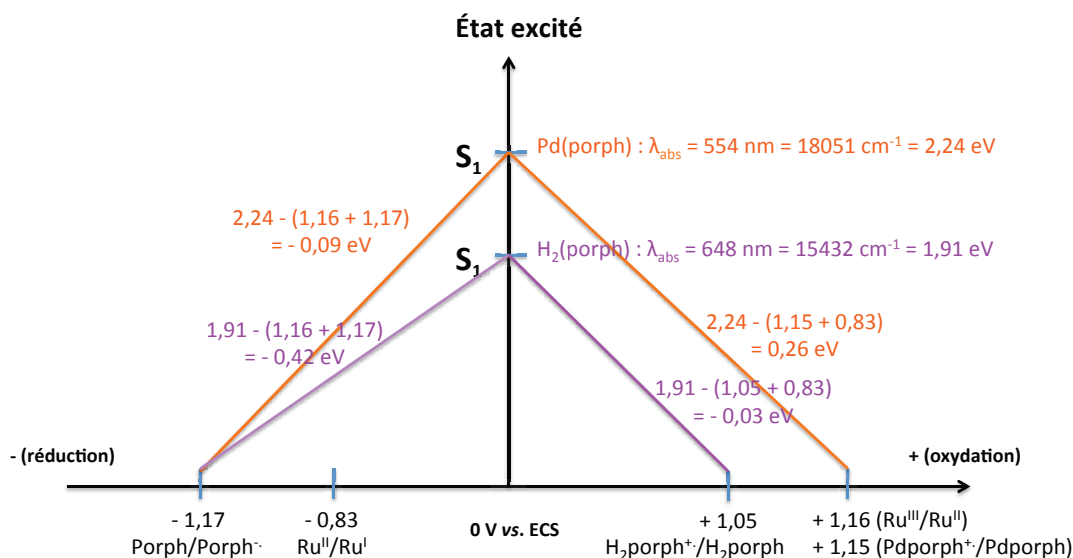


Figure 186 : Diagramme de Latimer modifié.

Si nous nous intéressons à l'oxydation de la porphyrine et à la réduction du ruthénium, l'écart d'énergie potentiel est plus faible ($1,15 + 0,83 = 1,98 \text{ V}$ pour le composé **96** et $1,05 + 0,83 = 1,88 \text{ V}$ pour le composé **94**). Sous irradiation, nous disposons donc une « force motrice » de 0,26 V vs. ECS ($2,24 - 1,98 \text{ V}$) pour le composé **96** et de 0,03 V vs. ECS pour le composé **94**, qui pourrait permettre d'obtenir un transfert d'électron entre ces deux entités. La distance entre les deux fragments est de 17 Å.

Au vue des potentiels oxydo-réduction des différents systèmes, l'apport d'énergie obtenu à l'état excité ne semble pas suffisant pour effectuer ce transfert d'électron.

Nous pensons que l'inhibition est plutôt due à un phénomène de conversion interne puisque les masses des deux fragments (porphyrine et ruthénium, osmium) sont beaucoup plus importantes que dans les cas des systèmes analogues avec un motif BODIPY.

Le transfert d'atome

Dans notre situation, le transfert d'atome entre la porphyrine et le complexe métallique ne peut pas se réaliser puisque la distance est trop longue ($> 18 \text{ Å}$) et la structure des complexes est sous forme « étalée ». La seule interaction chimique possible est entre le ligand chlorure du complexe métallique et le proton de la thiourée. Pour cela, une image a été générée à l'aide du programme

PCModel afin de déterminer la distance (approximative) la plus proche entre ces deux atomes (Figure 187). Une distance de 2,52 Å a été trouvée pour des structures d'énergie minimum, ce qui est assez longue pour qu'une réaction chimique se déroule. Même si une interaction M-Cl...H-N existe, les états excités S_1 et T_1 sont situés dans le chromophore porphyrine. Donc il n'y aura aucun effet possible sur l'interaction éloignée M-Cl...H-N. De même, les mesures de photophysiques ont été réalisées dans le 2-MeTHF. Le 2-MeTHF est un solvant coordonnant qui va empêcher de créer cette liaison entre ces deux atomes.

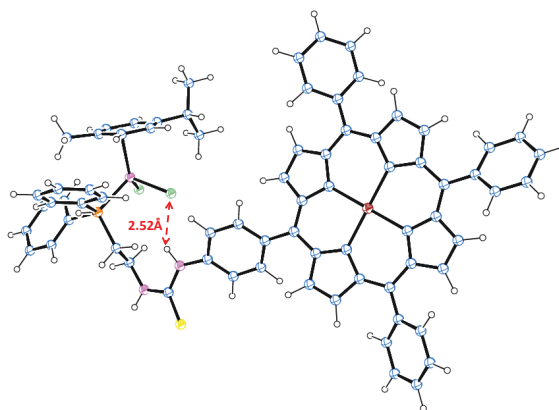


Figure 187 : Image générée d'une structure minimisée du complexe porphyrine-M(II) à l'aide du programme PCModel (version 9,20) pour déterminer la distance chlore-NH.

La partie imagerie de nos théranostiques à base de porphyrines a été mise en évidence par des études de photophysique. Pour la partie thérapeutique, afin d'améliorer les propriétés anticancéreuses de nos composés, nous avons voulu développer des complexes porphyrine-RAPTA.

IV. VERS UN SYSTÈME PLUS ÉLABORÉ : PORPHYRINE-RAPTA

IV.1 Stratégies envisagées

En introduction, nous avons vu qu'il existe différents mécanismes d'action en fonction du type de complexes du ruthénium. Dyson *et al.* ont observé des propriétés anticancéreuses très intéressantes sur les complexes de ruthénium RAPTA (Figure 188).¹³²⁻¹³⁴

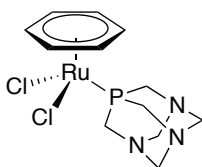


Figure 188 : Structure du RAPTA-B.

Cependant, le mécanisme d'action, la pharmacocinétique et la biodistribution de ces composés n'ont pas encore été pleinement compris et étudiés. Des études de cytotoxicité *in vitro* ont montré que ces composés étaient beaucoup moins cytotoxiques que le cisplatine. En revanche, les résultats des études *in vivo* ont été plus prometteurs.¹³⁴ Les composés de type RAPTA semblent opérer par un

mode d'action différent par rapport au cisplatine (cf. introduction). Dans le but d'obtenir de nouvelles pistes sur le mécanisme d'action des dérivés du RAPTA, nous nous sommes intéressés au développement de nouveaux théranostiques à base de porphyrine. Comme dans les systèmes précédents, la porphyrine peut être métallée avec divers métaux afin d'obtenir différentes modalités d'imagerie. Les métaux peuvent être non radioactifs pour l'imagerie optique ou l'IRM ou émetteurs β^+ ou γ pour l'imagerie TEP ou TEMP respectivement. Ainsi, différents types d'images peuvent être obtenus. La combinaison de ces différentes études permettrait ainsi de déterminer au mieux le mode d'action et la pharmacocinétique des dérivés du RAPTA.

Dans ce chapitre, la liaison porphyrine-RAPTA a été envisagée par le biais de l'arène du ruthénium. Effectivement, ayant en notre possession des porphyrines fonctionnalisées avec des fonctions isothiocyanates, l'idée a été d'utiliser des complexes de ruthénium possédant une fonction amine sur l'arène dans le but de réaliser le couplage. De plus, ce couplage isothiocyanate/amine s'est avéré très efficace pour accéder à des porphyrines phosphines.

Outre la possibilité d'avoir un ligand hydrosolubilisant comme le PTA, l'obtention comme intermédiaire du dimère **115** ou **118** nous permettrait de coordonner toute une variété de phosphines.

La synthèse de ce complexe peut s'envisager selon deux stratégies différentes, soit étape par étape à partir du précurseur cyclohexadiène amine, soit de manière convergente (Figure 189).

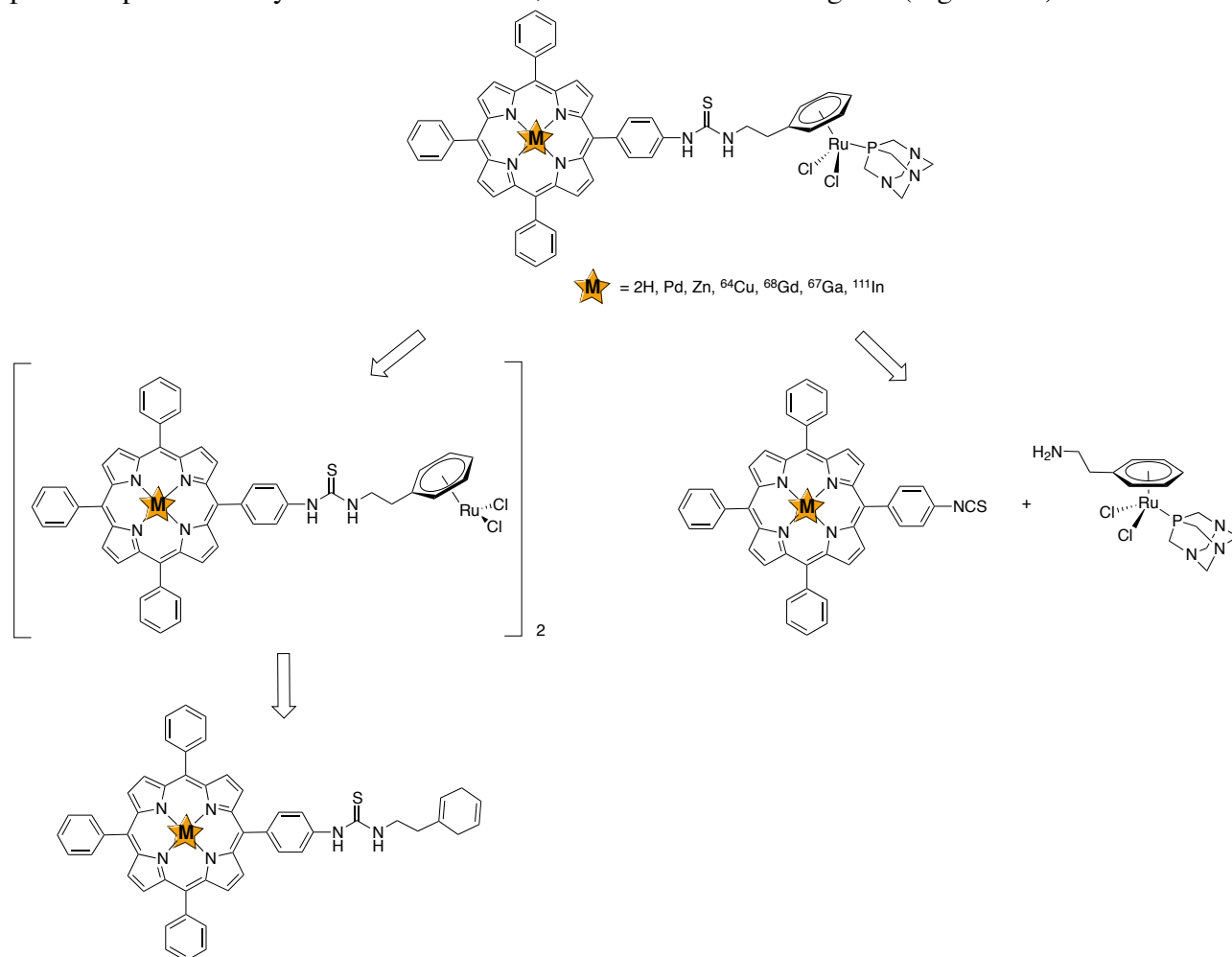


Figure 189 : Structure du complexe et stratégies de rétrosynthèse envisagées.

Dans un premier temps, nous nous sommes focalisés sur l'utilisation du précurseur cyclohexadiène amine.

IV.2 Synthèse à partir du précurseur cyclohexadiène amine

Au laboratoire, le dérivé du cyclohexadiène, la 2,5-dihydrophényléthylamine, est à notre disposition. Il a été obtenu par la réduction de Birch.³⁶⁸ La synthèse du ligand porphyrine-diène a été effectuée dans les mêmes conditions opératoires que la synthèse des ligands porphyrine-phosphine **106** et **107**, mais avec un petit excès (1,2 eq) du précurseur diénique. Ainsi, les deux précurseurs ont été mis en solution dans le dichlorométhane (Schéma 74). Après 4 h (suivi CCM), la réaction a été stoppée et le produit **114** a été isolé sur une colonne chromatographique sur silice avec un rendement quantitatif.

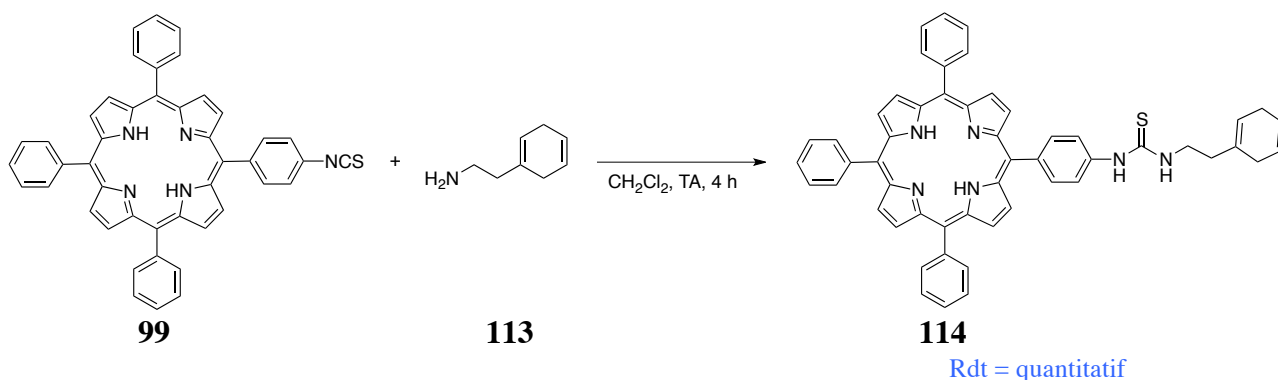


Schéma 74 : Synthèse de la porphyrine base libre-cyclohexadiène **114**.

La formation du ligand **114** a été confirmée par analyse de spectrométrie de masse MALDI-TOF et par analyse de spectroscopie RMN ^1H dans CDCl_3 . La superposition des spectres RMN ^1H des précurseurs et du ligand porphyrine-diène **114** montre la formation de la fonction thiourée par l'apparition des signaux à $\delta = 7,97$ ppm et à $\delta = 6,58$ ppm intégrant chacun pour un proton. Un léger déplacement chimique des doublets relatifs au phényle porteur de la fonction thiourée a été constaté. Les résultats ont été également confirmés par un déblindage significatif des noyaux d'hydrogène caractéristiques de la fonction éthyle du cyclohexadiène.

L'étape suivante consiste en la synthèse du complexe dimérique de ruthénium à partir du ligand porphyrine-cyclohexadiène **114**. Dans la littérature, la complexation d'un diène sur du ruthénium s'effectue dans l'alcool (MeOH, EtOH).^{287,369-371} Pour se situer dans les mêmes conditions que la littérature, la réaction a été testée dans un premier temps dans l'éthanol à 95%. Le chlorure de ruthénium (III), $\text{RuCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, a été ajouté sur le dérivé du cyclohexadiène dans l'éthanol (Schéma 75). Le composé **114** n'est pas soluble dans l'éthanol. Par conséquent, malgré un reflux durant plusieurs heures, le complexe dimérique **115** n'a pas été obtenu.

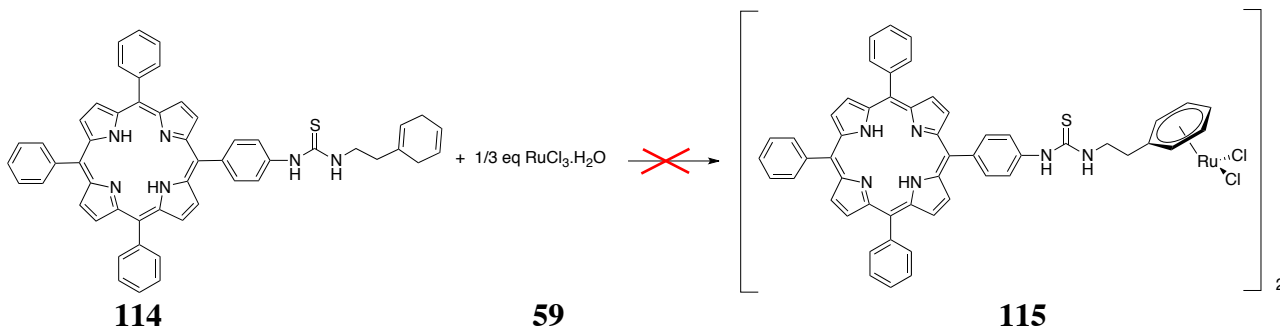


Schéma 75 : Synthèse du complexe dimérique porphyrine base libre-ruthénium **115**.

Pour favoriser à la fois la solubilité du ligand et les conditions de réaction pour la synthèse des dimères de ruthénium, la synthèse a été testée dans un mélange chloroforme/éthanol 95% (1 : 3). Les analyses spectrales MALDI-TOF et RMN ^1H ne montrent aucune formation du composé **115**.

La réaction de coordination d'un arène sur le ruthénium est assez complexe. Il est dès lors difficile de savoir si le problème vient du système de solvants ou de la présence de la porphyrine. Nous n'avons pas eu le temps d'explorer plus en avant cette réaction.

Dans l'avenir, plusieurs expériences devront être réalisées pour comprendre les raisons de cet échec :

- Vérifier s'il est possible de former $[p\text{-cymèneRuCl}_2]_2$ **61** dans ces mélanges de solvants,
- Tester de nouveaux systèmes de solvant,
- Tester des réactions modèles avec ou sans porphyrine,
- Tester la réaction avec la porphyrine palladium,
- En dernier recours, utiliser un $[\text{Ru}(\text{napht})(\text{cod})]$ comme précurseur (avec napht = naphtalène et cod = cyclooctadiène).³⁷²⁻³⁷⁵

Comme la difficulté repose sur la formation du dimère, nous avons décidé de coupler directement le complexe ruthénium amine, préalablement synthétisé, sur la porphyrine isothiocyanate.

IV.3 Synthèse à partir du précurseur dimérique de ruthénium

IV.3.1 Synthèse du précurseur dimérique de ruthénium

La synthèse du précurseur dimérique de ruthénium contenant une fonction ammonium sur la chaîne latérale de l'arène a été réalisée selon la littérature.³⁷⁶

Afin d'éviter la coordination de la fonction amine sur le centre métallique, la 2,5-dihydrophényléthylamine a été protonée par ajout d'HCl à 37% dans le méthanol, donnant ainsi le sel d'ammonium correspondant. Par la suite, le chlorure de ruthénium (III), $\text{RuCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, a été ajouté sur le dérivé du cyclohexadiène pour former le complexe de ruthénium (II) **117** (Schéma 76).^{287,369-371} Il a été obtenu avec un très bon rendement de 92%.

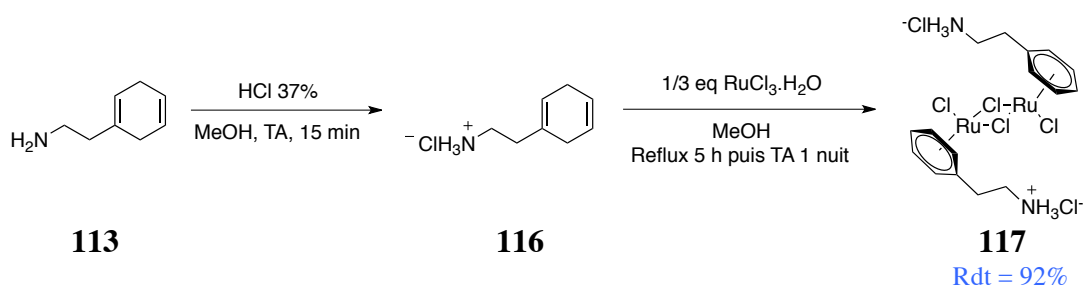


Schéma 76 : Synthèse du dimère de ruthénium-ammonium **117**.

Le complexe dimérique $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-arène})]_2$ **117** formé (arène = phényléthylammonium) a été isolé par précipitation dans l'éther diéthylique. Il est stable à l'air, se présente sous la forme d'une poudre verte kaki et est insoluble dans le dichlorométhane, l'éther et l'acétone. Il est très légèrement soluble dans les alcools mais il se dissout facilement dans des solvants comme l'eau et le DMSO.

Le spectre RMN ^1H du composé **117** dans le $\text{DMSO}-d_6$ présente un singulet à $\delta = 8,12$ ppm correspondant aux protons de l'ammonium. Les résonances caractéristiques des protons

aromatiques apparaissent entre $\delta = 6,04$ et $5,85$ ppm, ce qui représente un déplacement caractéristique par rapport aux arènes coordonnés (Figure 190).

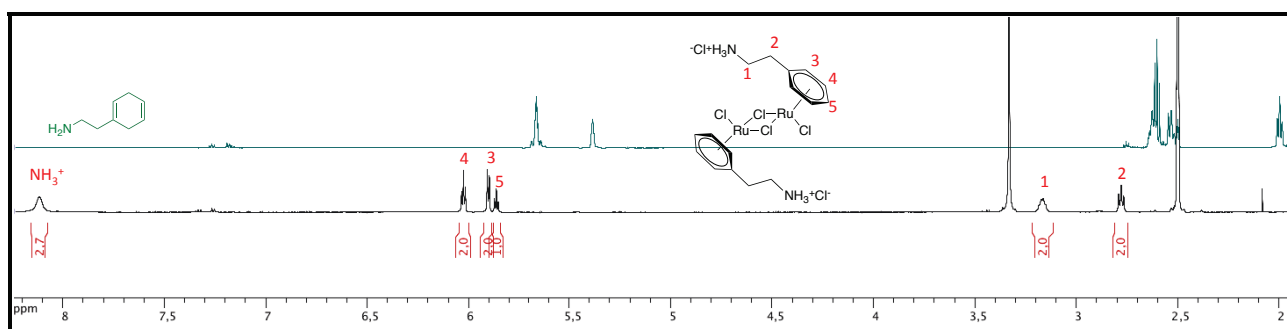


Figure 190 : Superposition des spectres RMN ^1H du cyclohexadiène amine 113 et du complexe 117 (600,13 MHz, DMSO- d_6 , 300 K).

Les analyses de spectrométrie de masse ESI-MS confirment la formation du dimère. Le spectre montre deux amas isotopiques à $m/z = 552,9$ Da correspondant au complexe avec perte d'un chlorure et de deux protons $[\text{M}-2\text{H}-\text{Cl}]^+$ et à $m/z = 258,0$ Da correspondant au monomère $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{Cl}_1\text{N}_1\text{Ru}_1$.

IV.3.2 Couplage avec la porphyrine isothiocyante

Tout d'abord, la mise au point des conditions opératoires a été effectuée avec le ruthénium dimère contenant une fonction ammonium sur la chaîne latérale de l'arène pour des raisons de faible disponibilité du ligand PTA (1,3,4-triaza-7-phosphatricyclo-[3.3.1.1]décane) (Figure 191).

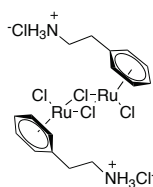


Figure 191 : Structure du précurseur dimérique de ruthénium contenant une fonction ammonium.

La porphyrine isothiocyante métallée au palladium **100** a été utilisée pour les réactions de couplage peptidique avec le ruthénium dimérique **117**.

Dans le but de déprotonner l'ammonium du dérivé du ruthénium, de la triéthylamine a été employée. Plusieurs conditions opératoires ont été testées : dichlorométhane durant 16 h, diméthylformamide durant 5 j, dichloroéthane durant une semaine. Ces conditions ne nous ont pas permis d'aboutir au complexe **118** (Schéma 77).

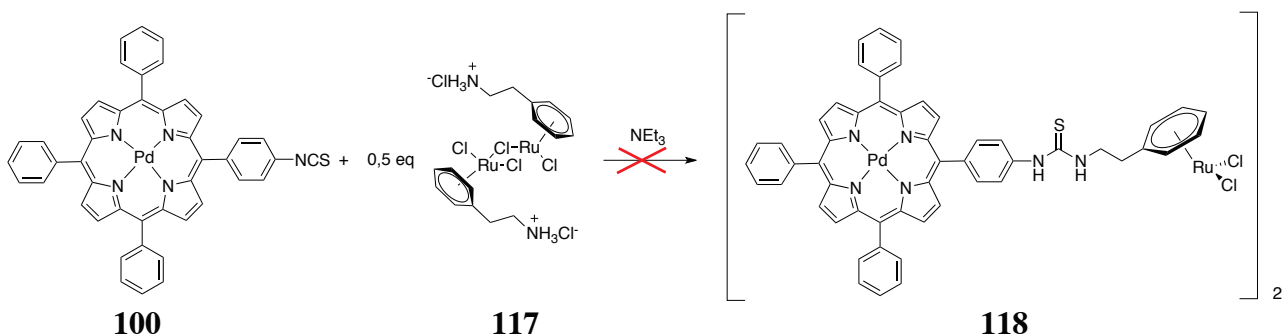


Schéma 77 : Synthèse du complexe dimérique porphyrine palladium-ruthénium 118.

Le brut réactionnel a été caractérisé par spectroscopie RMN ^1H et par spectrométrie de masse ESI-MS et MALDI-TOF. Les spectres de masse ont montré plusieurs amas isotopiques correspondant à des sous-produits de dégradation. Un pic de très faible intensité relatif au complexe **118** a été observé. En revanche, le pic du précurseur porphyrinique isothiocyanate n'a pas été mis en évidence. Les spectres RMN ^1H soulignent un changement au niveau de la multiplicité et du déplacement chimique de la porphyrine. Un blindage des protons CH_2 en α de l'arène a été constaté. Les noyaux d'hydrogène caractéristiques de l'arène du ruthénium ont disparu, bien que les conditions opératoires soient douces. Ces différentes analyses le composé **118** désiré ne se forme pas ou du moins très peu dans ces conditions.

IV.4 Synthèse à partir du complexe $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-arène})(\text{PPh}_3)]$

Les tests de couplage ont ensuite été réalisés à partir du complexe $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-arène})(\text{PPh}_3)]$ afin de préserver notre « stock » de complexe RAPTA.

IV.4.1 Synthèse du complexe $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-arène})(\text{PPh}_3)]$

Le complexe arène-ruthénium du type $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-arène})(\text{PPh}_3)]$ a pu être synthétisé à partir du complexe dimérique $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-arène})]_2$ **117**.^{369,376} Le ruthénium dimère **117** réagit avec la triphénylphosphine dans le diméthylformamide à température ambiante pour donner le complexe **119** avec un rendement de 89% (Schéma 78).



Schéma 78 : Synthèse du complexe ruthénium-ammonium $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-arène})(\text{PPh}_3)]$ **119**.

Le complexe **119** $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-arène})(\text{PPh}_3)]$ a été isolé par précipitation dans le dichlorométhane. Il est stable à l'air sous forme de poudre beige. Il est soluble dans les mêmes solvants que le complexe dimérique.

Le composé **119** a été caractérisé par spectroscopie RMN ^1H et ^{31}P , et par spectrométrie de masse ESI-MS. Le spectre RMN ^{31}P dans le DMSO- d_6 donne lieu à un pic à $\delta = 28,2$ ppm. Le pic du phosphore relatif au ligand triarylphosphine libre se situe à $\delta = -6,7$ ppm. Le spectre RMN ^1H confirme la formation du complexe par un blindage significatif des protons de l'arène du ruthénium. Un faible déblindage des protons du ligand PPh_3 a été observé entre $\delta = 7,40$ et $7,66$ ppm. Les protons du groupement éthyle sont très peu affectés par la coordination du ligand PPh_3 (Figure 192). Sur les analyses spectrométriques de masse ESI-MS, seuls les amas isotopiques caractéristiques du complexe sont représentés. Effectivement, le pic à $m/z = 484,1$ Da correspond à $[\text{M}-2\text{H}-2\text{Cl}]^+$, à $m/z = 520,1$ Da à $[\text{M}-\text{H}-\text{Cl}]^+$ et à $m/z = 556,0$ Da à $[\text{M}]^+$.

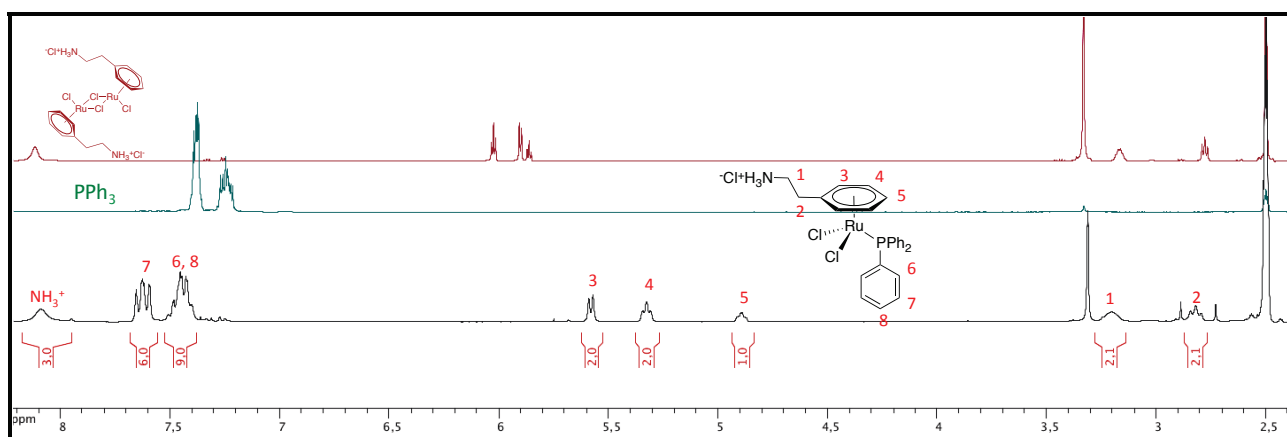


Figure 192 : Superposition des spectres RMN ^1H du complexe dimérique, du ligand PPh_3 et du complexe **119** (300,13 MHz, DMSO-d_6 , 300 K).

IV.4.2 Couplage avec la porphyrine isothiocyanate

Pour se situer dans les mêmes conditions que précédemment, de la triéthylamine a été employée pour la déprotonation de l'ammonium et former ainsi l'amine libre correspondant. Les réactions ont été effectuées dans le diméthylformamide pour la solubilité du précurseur $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-arène})(\text{PPh}_3)]$ **119** (Schéma 79). Les résultats des analyses montrent l'absence de la formation du complexe **120** désiré.

La spectrométrie de masse montre plusieurs amas isotopiques difficile à interpréter et la présence du précurseur porphyrinique n'est pas observée. L'analyse RMN ^1H dans le DMSO-d_6 présente très peu de changement au niveau de la porphyrine. Les signaux caractéristiques de l'arène du ruthénium ont disparu. L'analyse RMN ^{31}P affiche trois pics à $\delta = 25,5$ ppm (65%), $\delta = 28,2$ ppm (16%) et à $\delta = 42,3$ ppm (14%). La structure des produits de ces signaux n'a pu être identifiée.

Une base aminée plus forte que la triéthylamine pour la déprotonation de l'ammonium a été ensuite utilisée. Cette amine doit être non nucléophile et encombrée dans le but d'éviter la coordination sur le centre métallique. Le DABCO (1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane) a été donc choisi. La réaction a été également effectuée dans le diméthylformamide pour des raisons de solubilité du précurseur ammonium (Schéma 79). D'après les analyses, la formation du complexe **120** n'a pas été mise en évidence.

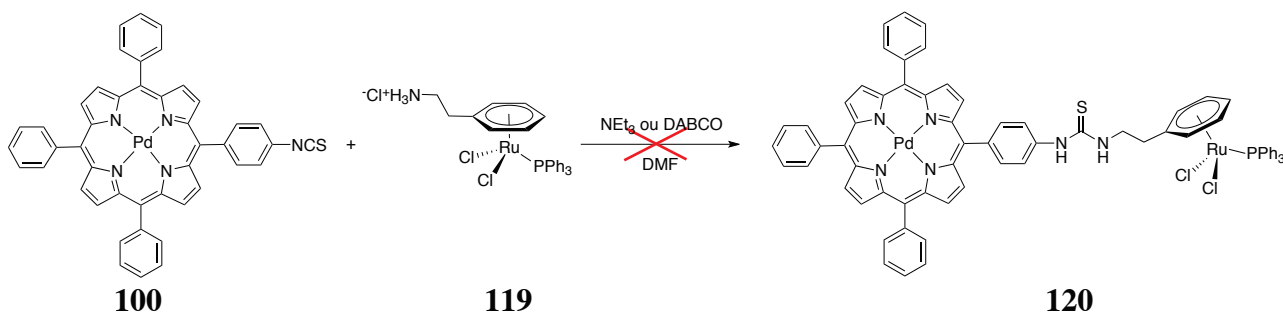


Schéma 79 : Synthèse du complexe porphyrine palladium-ruthénium PPh_3 **120**

Un suivi RMN ^{31}P no lock a été effectué après 24 h. Il affiche un signal large et mal défini à $\delta \approx 28,8$ ppm donc très peu de variation par rapport au complexe $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-arène})(\text{PPh}_3)]$ **119**, pic se situant à $\delta = 28,2$ ppm. Après évaporation du solvant réactionnel, le spectre RMN ^{31}P dans le

DMSO- d_6 a évolué. Il montre trois pics à $\delta = 25,5$ ppm (84%), à $\delta = 28,1$ ppm (intensité très faible) et à $\delta = 42,3$ ppm (16%). Le signal à $\delta = 28,1$ ppm révèle la présence en très faible quantité soit du précurseur de ruthénium soit la formation du produit désiré, ce dernier nous paraît le plus cohérent en vue des réactifs mis en jeu. L'analyse RMN ^1H dans le DMSO- d_6 présente un spectre ininterprétable dans la zone des phényles. Les protons caractéristiques de l'arène du ruthénium ont également disparu. En revanche, la spectrométrie de masse ESI-MS affiche une multitude d'amas isotopiques. Parmi ces amas isotopiques, deux ont pu être identifiés dont un à $m/z = 1260,2$ Da correspondant au complexe désiré $[\text{M}]^+$ et un à $m/z = 997,1$ Da correspondant à la perte de deux chlorures et du ligand PPh_3 $[\text{M}-\text{HCl}-\text{Cl}-\text{PPh}_3]^+$. La structure des sous-produits de dégradation n'a pas pu clairement être identifiée. L'évolution du spectre RMN ^{31}P tend à démontrer que la décoordination de l'arène du ruthénium se produit lors de l'évaporation du DMF, bien que la température de chauffage (50°C) utilisée pour l'évaporation n'est pas élevée.

Bien que les résultats obtenus précédemment ne soient pas concluant, nous avons voulu tester le couplage avec le complexe cible : RAPTA.

IV.5 Synthèse à partir du complexe $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-arène})(\text{PTA})]$

IV.5.1 Synthèse du complexe $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-arène})(\text{PTA})]$

Le complexe arène-ruthénium du type $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-arène})(\text{PTA})]$ (PTA = 1,3,5-triaza-7-phosphaadamantane) a pu être synthétisé à partir du complexe dimérique $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-arène})]_2$ **117**.

Le ruthénium dimère **117** réagit avec le ligand phosphine PTA dans le diméthylformamide à température ambiante pour donner le complexe **122** avec un rendement de 66% (Schéma 80). Cette synthèse a été initialement décrite par Zelonka pour des espèces apparentées,³⁶⁹ puis elle a été largement utilisée pour développer des composés de ce type.^{377,378}

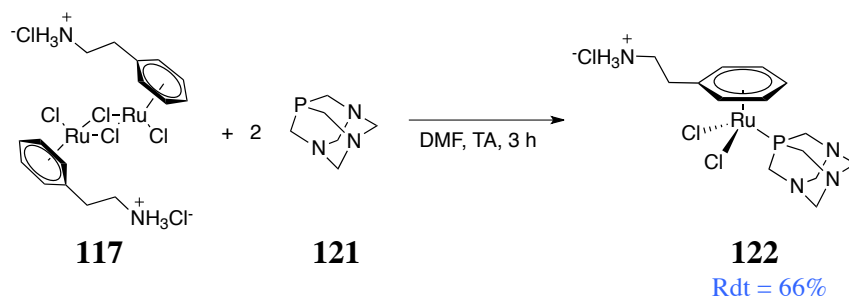


Schéma 80 : Synthèse du RAPTA ammonium **122**.

Le dérivé PTA est soluble dans l'eau, le DMF, le DMSO. La solubilité est déterminée par le ligand PTA. Lorsque le ligand PTA est protoné, le complexe est préférentiellement soluble dans l'eau et lorsqu'il est déprotonné, la solubilité dans les solvants organiques est favorisée.

Le composé **119** a été caractérisé par spectroscopie RMN ^1H et ^{31}P . Le déplacement chimique du signal du phosphore du ligand PTA libre se situe à $-104,2$ ppm dans le DMSO- d_6 et se déplace à $\delta = -31,4$ ppm après coordination sur le ruthénium dimère. Sur le spectre RMN ^1H , le ligand PTA donne lieu à deux singulets intégrant chacun pour six protons à $\delta = 4,45$ ppm et à $\delta = 4,21$ ppm. Le singulet à plus haute fréquence est affecté aux protons des CH_2 dans l'hétérocycle azoté et l'autre à

plus faible fréquence correspond aux protons des CH₂ dans l'hétérocycle phosphore-azote (Figure 193).

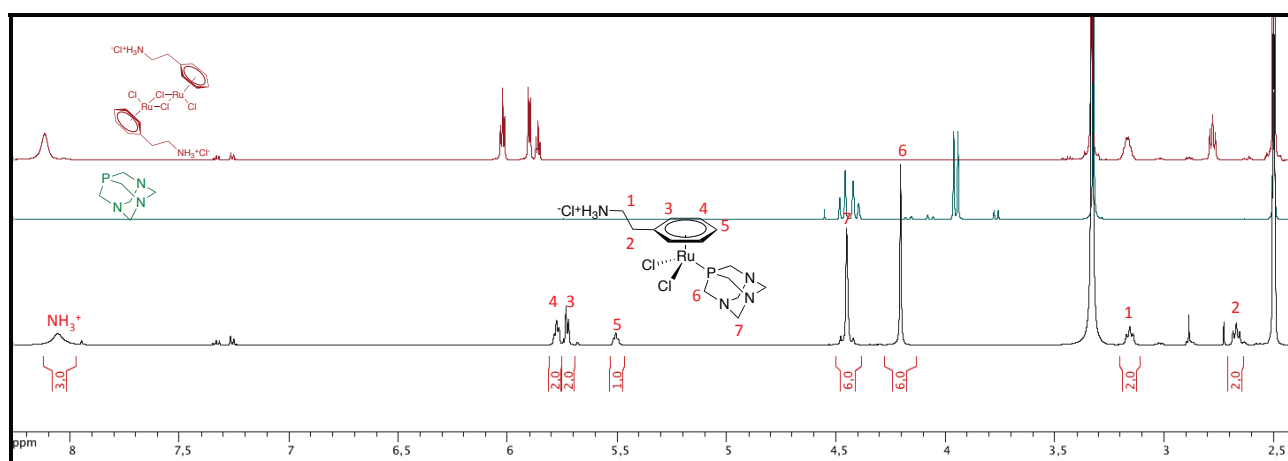


Figure 193 : Superposition des spectres RMN ¹H du complexe dimérique, du ligand PTA et du complexe **122** (500,13 MHz, DMSO-d₆, 300 K).

IV.5.2 Couplage avec la porphyrine isothiocyanate

Dans les réactions précédentes, l'utilisation de la triéthylamine ou du DABCO a donné des interprétations identiques au niveau des analyses. Ainsi, pour la déprotonation de l'ammonium du précurseur [RuCl₂(η⁶-arène)(PTA)] **122**, la synthèse a été effectuée à partir de la triéthylamine (Schéma 81). Les analyses ont montré également l'absence de la formation du composé **123** désiré.

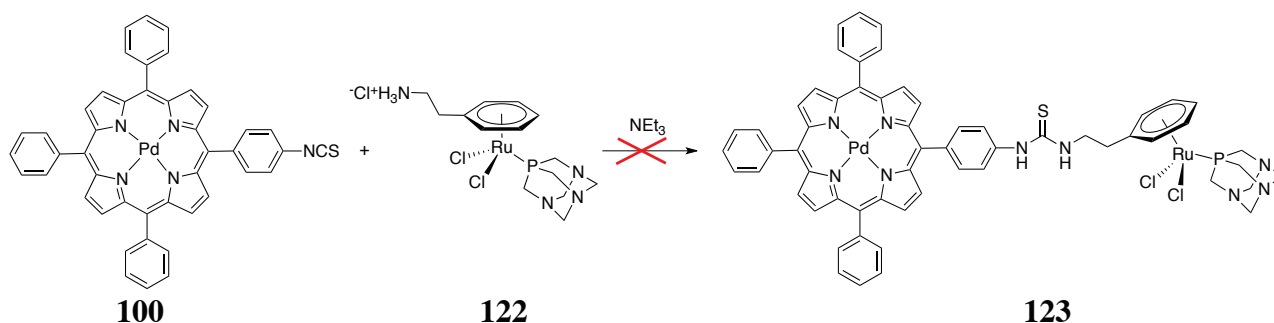


Schéma 81 : Synthèse du complexe porphyrine palladium-RAPTA **123**.

Des analyses RMN ¹H et ³¹P dans le DMSO-d₆ ont été effectuées sur ce composé **123**. Le spectre RMN ³¹P affiche deux singulets à δ = - 2,9 ppm et à δ = - 11,2 ppm. Le spectre RMN ¹H montre un blindage du doublet relatif aux protons en *ortho* de la fonction isothiocyanate de la porphyrine. Les déplacements chimiques du ligand PTA et des CH₂ de la chaîne alkyle du dérivé du ruthénium ont également changé. Les protons correspondant à l'arène du ruthénium ont disparu. En revanche, un multiplet intégrant pour quatre protons est apparu dans la zone des phényles. Il correspond aux noyaux d'hydrogène de l'arène décoordiné du ruthénium. Les analyses RMN montrent donc le greffage de la fonction amine du précurseur du ruthénium sur la fonction isothiocyanate avec décoordination de l'arène du ruthénium. Des analyses de spectrométrie de masse ESI-MS ont été également effectuées sur le composé **123**. Plusieurs amas isotopiques confirment les résultats des analyses RMN. Deux signaux de faible intensité correspondent au produit **123** désiré.

Pour chaque réaction avec les différents précurseurs de ruthénium, nous observons la décooordination de l'arène du ruthénium. Le problème peut venir du solvant, de la base utilisée ou de l'instabilité de l'arène après couplage sur l'unité porphyrinique. Nous avons alors voulu vérifier la stabilité du précurseur arène-ruthénium dans les conditions du couplage en l'absence de porphyrine isothiocyanate. Dans la bibliographie, la déprotonation de la fonction ammonium s'effectue dans le méthanol. Le RAPTA ammonium a été donc mis en solution dans le méthanol en présence de trois bases différentes : triéthylamine, DABCO et KHMDS (potassium bis(triméthylsilyl)amide). Les analyses RMN ^1H de la réaction avec la triéthylamine et le KHMDS montrent la disparition des protons caractéristiques de l'arène coordiné. En revanche, le spectre de la réaction en présence de DABCO montre la présence de ces protons avec un changement de leur déplacement chimique. Les autres protons du complexe présentent également une variation de leur déplacement chimique par rapport au dérivé ammonium. Le DABCO ne décoordine donc pas l'arène du ruthénium. Le couplage entre la porphyrine isothiocyanate **100** et le précurseur ammonium $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-arène})(\text{PTA})]$ **122** devra être à nouveau étudié en présence de cette base.

La réaction de déprotonation du RAPTA ammonium **122** par du DABCO a été réalisée dans le méthanol. Le RAPTA ammonium **122** doit donc être mis en solution dans le méthanol en présence de DABCO. Après agitation à température ambiante sur plusieurs minutes, le méthanol doit être évaporé et le brut réactionnel repris dans le dichlorométhane, à priori plus soluble dans ce type de solvant après obtention de l'amine libre. Une filtration peut être réalisée dans le but d'éliminer les sels obtenus. Enfin, la dernière étape consiste à ajouter en quantité stoechiométrique la porphyrine isothiocyanate à la solution précédente (Schéma 82). Par manque de temps, cette synthèse n'a pas pu être réalisée.

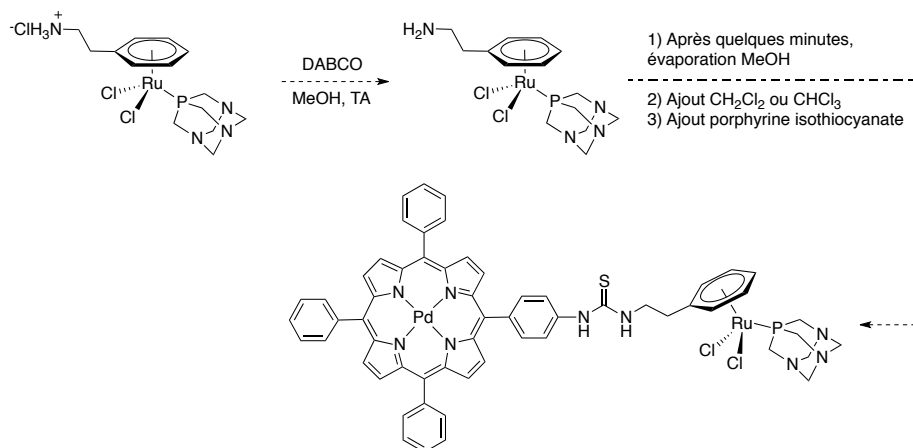


Schéma 82 : Schémas réactionnels envisagés pour la synthèse du complexe porphyrine palladium-RAPTA.

V. CONCLUSION

En nous inspirant de la stratégie du chapitre 2, nous avons synthétisé cinq nouveaux théranostiques. Ils sont composés par une entité porphyrinique et un complexe organométallique de ruthénium, d'osmium ou d'or. La porphyrine et le fragment organométallique ont été reliés *via* un ligand phosphinique. Les complexes ont été obtenus avec de très bons rendements et sont synthétisables à l'échelle du gramme. Leurs propriétés spectroscopiques et photophysiques ont été déterminées. Comme dans le cas des complexes à base de BODIPYs, la présence de l'osmium et du ruthénium résultent en une inhibition de la fluorescence. À l'inverse, la fluorescence ou la phosphorescence des composés à base d'or diffèrent très peu par rapport au ligand phosphine libre.

Les études *in vitro* sur nos divers complexes sont en cours. Le but de ces études est de déterminer les activités cytotoxiques par le biais des valeurs d'IC₅₀ et d'imager les composés par fluorescence confocale à la concentration à laquelle ils sont actifs. Ces études devraient permettre d'obtenir plusieurs informations comme l'absorption cellulaire et la sélectivité ou non de ces théranostiques. Le deuxième projet sur les théranostiques à base de porphyrine a été débuté en utilisant une stratégie différente. L'objectif était de coordonner l'analogue des complexes RAPTA, développés par le groupe de Dyson,¹³²⁻¹³⁴ sur la porphyrine *via* l'arène. Les différentes conditions opératoires réalisées ne nous ont pas permis d'obtenir le composé désiré. D'autres réactions doivent être testées par la suite afin de combiner les deux fragments.

Ainsi, la suite de ces travaux consiste à optimiser les théranostiques à base de porphyrines du premier et du deuxième projet pour leurs applications *in vivo* *via* l'amélioration de la solubilité dans l'eau. Quelques essais ont été réalisés à ce niveau et ont montrés des résultats prometteurs. De plus, à l'heure actuelle, nos composés porphyriniques ont été conçus pour une application en imagerie optique et valider le concept de ce sujet. Les porphyrines présentent des propriétés remarquables en tant que ligand de nombreux cations métalliques, ce qui les rend intéressantes en tant que traceur dans de nombreuses techniques d'imagerie actuelle. La suite de ces projets consiste donc à trouver des conditions opératoires idéales pour la chélation d'isotopes radioactifs d'intérêt, comme le [⁶⁴Cu]-cuivre, par la porphyrine.

CONCLUSION GÉNÉRALE

L'objectif de ce travail de thèse était de développer de nouveaux complexes organométalliques fluorescents pour des applications dans les domaines du photovoltaïsme et de la théranostique.

Dans un premier temps, nous avons voulu synthétiser des complexes organométalliques photoniques à base de titanocènes et de métalloporphyrines en vue d'études électrochimiques et photophysiques. Une série de composés modèles monosubstitués ou disubstitués a été développée avec diverses fonctions « d'accroche ». En s'inspirant des différentes conditions opératoires optimisées pour les composés modèles, nous avons essayé sans succès d'obtenir les complexes porphyrines-titanocène cibles. L'une des explications probables de cet échec est l'échelle de la réaction qui implique l'utilisation d'une infime quantité du précurseur de titane. Le travail sur la synthèse des complexes obtenus dans les chapitres 2 et 3 nous a montré l'importance de l'échelle à laquelle doivent être réalisées les réactions. En effet, l'étape clé pour ce type de composés est la purification et elle est grandement facilitée quand l'échelle est augmentée.

Au vu des difficultés rencontrées et en accord avec la forte orientation santé qu'a pris le laboratoire, nous avons orienté notre recherche vers une nouvelle voie d'application : les théranostiques en oncologie. Les premiers résultats encourageant concernant la synthèse de nouveaux agents théranostiques combinant un fragment métallique à activité thérapeutique et une sonde fluorescente (BODIPY) permettent aujourd'hui de valider la viabilité de l'approche : conservation de l'activité biologique *in vitro* et possibilité d'imager les composés par microscopie confocale de fluorescence à l'échelle de l'IC₅₀ (même pour les composés les moins fluorescents).

Nous avons ensuite souhaité optimiser les molécules pour une application *in vivo*. Pour cela, nous avons projeté de greffer une biomolécule vectrice, la biotine, afin d'obtenir un ciblage plus précis des cellules cancéreuses. Les différentes analyses tendent à démontrer que l'introduction de la biotine sur le composé est possible. L'étape suivante consiste donc à améliorer les conditions réactionnelles pour obtenir le dérivé de façon pure et éventuellement utiliser une autre propriété de la biotine, sa réactivité avec l'avidine, pour greffer le théranostique sur des protéines. Les applications *in vivo* nécessitent également des efforts importants à fournir pour améliorer les propriétés de luminescence du système en déplaçant l'émission du fluorophore vers le proche IR, l'amélioration de la solubilité dans l'eau et la limitation des phénomènes d'agrégation par π -stacking des entités BODIPY. Cela fait l'objet de la thèse de Pierre-Emmanuel Doulain.

Par ailleurs, en s'inspirant des résultats obtenus sur les complexes à base de BODIPYs, nous nous sommes focalisés sur le développement de nouveaux agents théranostiques contenant une entité porphyrinique. Ces complexes ont une structure analogue aux dérivés BODIPYs. Dans un premier temps, nous avons voulu valider le concept par utilisation des propriétés optiques des complexes porphyriniques. Leurs propriétés spectroscopiques ont été déterminées et comme dans le cas des complexes à base de BODIPYs, ils révèlent une inhibition partielle de la fluorescence dans le cas des complexes de ruthénium et de l'osmium. Les analyses de cytotoxicité et de microscopie confocale de fluorescence sont en cours. L'objectif du deuxième projet sur les théranostiques à base de porphyrine a été de coordonner l'analogue des complexes RAPTA sur la porphyrine *via* l'arène. Les différentes conditions opératoires réalisées ne nous ont pas permis d'obtenir le composé désiré. D'autres réactions doivent être testées par la suite afin de combiner les deux fragments. Pour améliorer les propriétés pour des applications *in vivo*, nos complexes porphyriniques doivent être hydrosolubles. Les premiers essais réalisés à ce niveau ont donné des résultats prometteurs.

En vue des grandes avancées technologiques dans le domaine de l'imagerie à l'heure actuelle, il est difficile de connaître quels examens médicaux prédomineront à long terme et quelle en sera la demande (imagerie optique, IRM, TEP ou TEMP). Après validation de nos composés en imagerie optique, l'idée est de développer une série de complexes pouvant incorporer des métaux radioactifs afin que ceux-ci correspondent aux attentes des médecins.

EXPERIMENTAL PART

INSTRUMENTATION

Solvent were dried and distilled under argon before use.

All the analysis were performed at the « Plateforme d'Analyses Chimiques et de Synthèse Moléculaire de l'Université de Bourgogne ».

NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE SPECTROSCOPY

^1H (300.13, 500.13, or 600.13 MHz), ^{13}C (75.5, 125.8, or 150.9 MHz), ^{31}P (121.5, 202.5, or 242.9 MHz) ^{11}B (96.3, 160.5, or 192.6 MHz) and ^{19}F (282.4, 470.6, or 564.8 MHz) NMR spectra were recorded on a Bruker 300 Bruker Avance III, a Bruker 500 Avance III or on a Bruker 600 Avance II spectrometer. Chemical shifts are quoted in parts per million (δ) relative to TMS (^1H and ^{13}C), using the residual protonated solvent (^1H) or the deuterated solvent (^{13}C) as an internal standard. Alternatively, 85% H_3PO_4 (^{31}P) and $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$ (^{11}B) were used as external standards. Coupling constants are reported in hertz and represent proton-proton coupling.

MASS SPECTROSCOPY

Mass spectra were obtained by MALDI-TOF with a Bruker DALTONICS Ultraflex II spectrometer.

High resolution mass measurements were carried out using Bruker microTOF-Q ESI-MS and LTQ Orbitrap XL (Thermo) mass spectrometers and low resolution mass measurements were carried out using an amazon SL (Bruker) mass spectrometer.

INFRARED SPECTROSCOPY

Infrared spectra were recorded with a Bruker Vector 22 with 1% sample mixed with potassium bromide. Far infrared spectra were recorded with IR FT Bruker Vertex 70v spectrophotometer.

MELTING POINT ANALYSIS

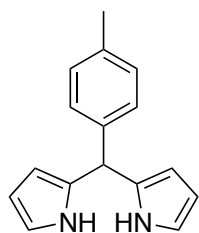
Melting points were determined on a BÜCHI Melting Point B-545.

UV-VISIBLE SPECTROSCOPY

Absorption spectra were recorded on a VARIAN CARY 50 spectrometer or on a JASCO V630 Bio spectrometer at the University of Burgundy and on a CARY 300 Bio University of Sherbrooke.

FLUORESCENCE

The steady-state fluorescence emission and excitation spectra were obtained by using a JASCO FP8560 spectrofluorometer instrument at the University of Burgundy and a double monochromator Fluorolog 2 spectrofluorometer (Spex) at the University of Sherbrooke.

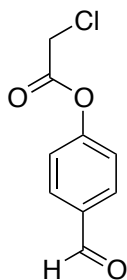
5-(*p*-Tolyl)dipyrromethane

Exact mass = 236.131 g.mol⁻¹

Molar mass = 236.312 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under a bubbling nitrogen. *P*-tolualdehyde (21 mL, 177.4 mmol) was dissolved in pyrrole distilled (600 mL). The mixture was stirred at room temperature for 30 min and at the dark. Trifluoroacetic acid (4 mL, 53.9 mmol) was added dropwise to the solution and it was stirred for 12 h. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was diluted in dichloromethane (500 mL), washed three times with water (3x500 mL), dried over magnesium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by filtration over a silica gel (eluent: dichloromethane). The first fraction is recovered and the solvent was removed under reduced pressure. A dark orange oil was obtained. The oil residual was triturated in pentane (100 mL) at 0 °C. The precipitated product was filtered and washed twice with pentane at 0 °C (2x100 mL). The dipyrromethane derivative **3** was isolated as a beige powder (39 g, 93%).

¹H NMR (300.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 2.34 (s, 3H, CH₃), 5.45 (s, 1H, Pyr-CH-Pyr), 5.92 (m, 2H, H_{Pyr} (3.7)), 6.16 (m, 2H, H_{Pyr} (2.8)), 6.69 (m, 2H, H_{Pyr} (1.9)), 7.08-7.15 (m, 4H, H_{Ar}), 7.92 (br s, 2H, NH)

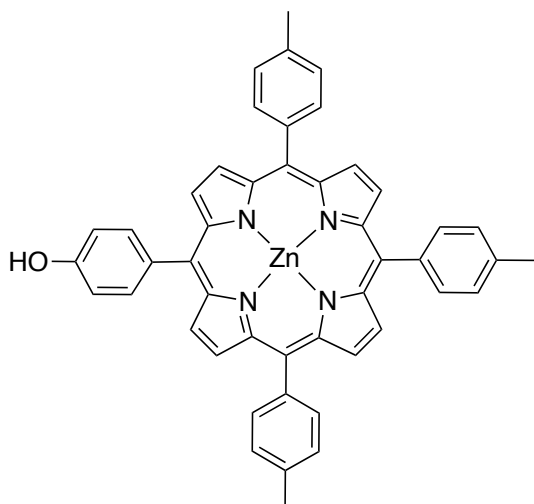
4-Chloroacetoxybenzaldehyde**6**Exact mass = 198.008 g.mol⁻¹Molar mass = 198.603 g.mol⁻¹

4-Hydroxybenzaldehyde (13.1 g, 107.3 mmol, 1.0 eq) and triethylamine (16 mL, 115.1 mmol, 1.1 eq) were dissolved in tetrahydrofuran (200 mL). The mixture was stirred at room temperature for 20 min. Chloroacetyl chloride (9.0 mL, 113.2 mmol, 1.1 eq) was added dropwise to the solution and it was stirred for 1 h. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was diluted in dichloromethane (250 mL), washed three times with water (3x250 mL), dried over magnesium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (eluent: dichloromethane/heptane (85:15)). The first fraction is recovered and the solvent was removed under reduced pressure. The benzaldehyde derivative **6** was isolated as a yellow oil (21 g, 99%).

¹H NMR (300.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 4.32 (s, 2H, CH₂Cl), 7.30 (d, 2H, ³J = 8.6 Hz, C₆H₄OCO), 7.91 (d, 2H, ³J = 8.6 Hz, C₆H₄CHO), 9.97 (s, 1H, CHO)

Zinc 5-(4-(hydroxy)phenyl)-10,15,20-tritolylporphyrin

8



C₄₇H₃₄N₄OZn
Exact mass = 734.202 g.mol⁻¹
Molar mass = 734.179 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under a bubbling nitrogen. 5-(*P*-tolyl)dipyrromethane **3** (3.75 g, 15.8 mmol, 1.9 eq), *p*-tolualdehyde (1.0 mL, 8.5 mmol, 1.0 eq) and 4-chloroacetoxybenzaldehyde **6** (1.93 g, 9.7 mmol, 1.1 eq) were dissolved in chloroform degassed (150 mL). The mixture was stirred at room temperature for 15 min and at the dark. Boron trifluoride diethyl etherate (0.35 mL, 2.8 mmol, 0.3 eq) was added dropwise to the solution and it was stirred for 1h30 under a bubbling nitrogen. *P*-chloranil (1.93 g, 7.8 mmol, 0.9 eq) was added. The oxidation occurred during 2 h under bubbling nitrogen and 1h in air. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was diluted in dichloromethane and purified by silica gel column chromatography (eluent: dichloromethane/heptane (80:20)). The fractions containing the product are collected and the solvent was removed under reduced pressure. The residue was dissolved in chloroform (150 mL). Zinc acetate (3.40 g, 15.5 mmol, 1.8 eq) and sodium acetate (2.13 g, 25.9 mmol, 3.1 eq) were dissolved in methanol (45 mL) and added at the solution. The mixture was heated to reflux for 2 h. Completion of the reaction was monitored by UV-visible and MALDI-TOF analysis. The MALDI-TOF spectrum showed the metallation and the “deprotection” of the porphyrin. The mixture was washed three times with water (3x250 mL), dried over magnesium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (eluent: dichloromethane) to afford the desired pure product **8** as a purple powder (2.65 g, 43%).

¹H NMR (300.13 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) 2.71 (s, 9H, CH₃), 7.22 (d, 2H, ³*J* = 8.5 Hz, C₆H₄OH), 7.58 (d, 6H, ³*J* = 7.8 Hz, *o*-C₆H₄CH₃), 8.07, (d, 2H, ³*J* = 8.5 Hz, C₆H₄OH), 8.09 (d, 6H, ³*J* = 7.8 Hz, *m*-C₆H₄CH₃), 8.95 (m, 6H, H_β), 8.97 (d, 2H, ³*J* = 1.7 Hz, H_β)

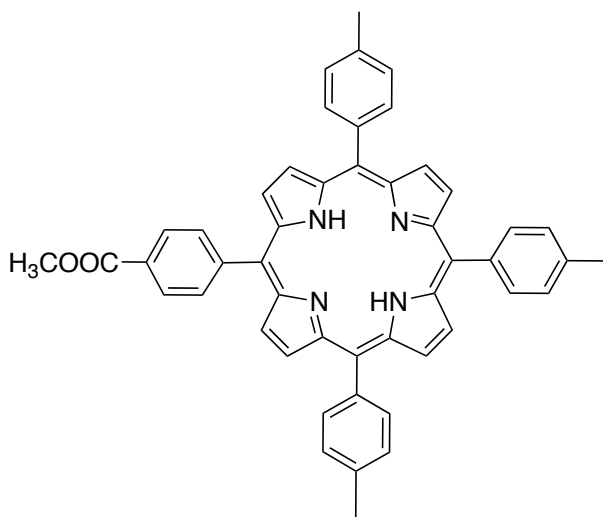
MS (MALDI-TOF): *m/z* calcd for C₄₇H₃₄N₄OZn⁺: 734.202 Da [M]⁺. Found: 734.007 Da

UV-vis (CH₂Cl₂): λ_{max} (nm) (ε, 10³ M⁻¹ cm⁻¹) 422 (323), 551 (12), 592 (4)

IR: ν̄ (cm⁻¹): 3382 (ν_{O-H})

5-(4-(Methoxycarbonyl)phenyl)-10,15,20-tritolylporphyrin

10



$\text{C}_{49}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_2$
 Exact mass = 714.299 g.mol⁻¹
 Molar mass = 714.852 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under a bubbling nitrogen. 5-(*P*-tolyl)dipyrromethane **3** (4.45 g, 18.8 mmol, 1.9 eq), *p*-tolualdehyde (1.3 mL, 11.0 mmol, 1.1 eq) and methyl-4-formylbenzoate (1.64 g, 10.0 mmol, 1.0 eq) were dissolved in chloroform degassed (500 mL). The mixture was stirred at room temperature for 15 min and at the dark. Boron trifluoride diethyl etherate (0.40 mL, 3.2 mmol, 0.3 eq) was added dropwise to the solution and it was stirred for 1h30 under a bubbling nitrogen. *P*-chloranil (2.25 g, 9.2 mmol, 0.9 eq) was added. The oxidation occurred during 2 h under bubbling nitrogen and 1h in air. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was diluted in dichloromethane and purified by silica gel column chromatography (eluent: dichloromethane/heptane (90:10)) to afford the desired pure product **10** as a purple powder (1.59 g, 22%).

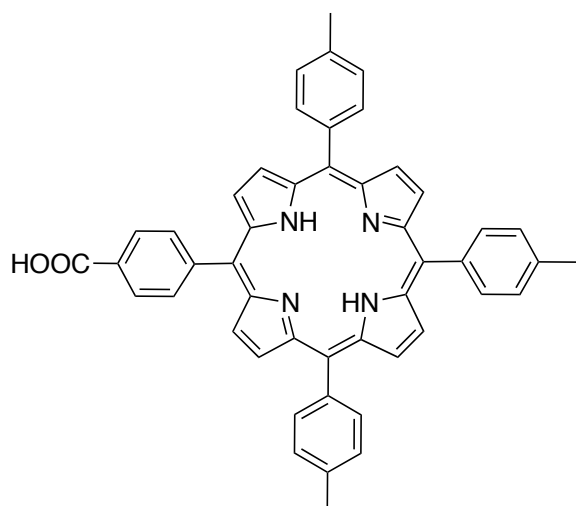
¹H NMR (300.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) - 2.94 (br s, 2H, NH_{porph}), 2.67 (s, 9H, CH₃), 4.04 (s, 3H, OCH₃), 7.64 (d, 6H, ³*J* = 8.0 Hz, *o*-C₆H₄CH₃), 8.10 (d, 6H, ³*J* = 8.0 Hz, *m*-C₆H₄CH₃), 8.37 (d, 2H, ³*J* = 8.3 Hz, C₆H₄COOCH₃), 8.41 (d, 2H, ³*J* = 8.3 Hz, C₆H₄COOCH₃), 8.79-8.86 (m, 8H, H_β)

MS (MALDI-TOF): *m/z* calcd for C₄₉H₃₈N₄O₂ + H⁺: 715.307 Da [M+H]⁺. Found: 715.117 Da

UV-vis (CH₂Cl₂): λ_{max} (nm) (ε, 10³ M⁻¹ cm⁻¹) 419 (122), 516 (14), 552 (5), 593 (3), 648 (2)

5-(4-(Carboxy)phenyl)-10,15,20-tritolylporphyrin

11



$\text{C}_{48}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_2$
 Exact mass = 700.284 g.mol⁻¹
 Molar mass = 700.825 g.mol⁻¹

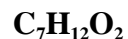
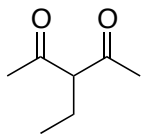
5-(4-(Carboxymethyl)phenyl)-10,15,20-tritolylporphyrin **10** (670 mg, 0.86 mmol, 1.0 eq) was dissolved in tetrahydrofuran/MeOH (300 mL (2:1)). Potassium hydroxide (512 mg, 9.13, 10.6 eq) dissolved in water (35 mL) was added. The mixture was stirred and heated to 60 °C for 16 h at the dark. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was diluted in chloroform (500 mL), washed three times with water (3x500 mL) and dried over magnesium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (eluent: dichloromethane/methanol (95:5)) to afford the desired pure product **11** as a purple powder (427.9 mg, 71%).

¹H NMR (300.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) - 2.94 (br s, NH_{porph}), 2.66 (s, 9H, CH₃), 7.63 (d, 6H, ³*J* = 8.0 Hz, *o*-C₆H₄CH₃), 8.09 (d, 6H, ³*J* = 8.0 Hz, *m*-C₆H₄CH₃), 8.33 (d, 2H, ³*J* = 8.4 Hz, C₆H₄COOH), 8.38 (d, 2H, ³*J* = 8.4 Hz, C₆H₄COOH), 8.80-8.86 (m, 8H, H_β)

MS (MALDI-TOF): *m/z* calcd for C₄₈H₃₆N₄O₂H⁺: 701.292 Da [M+H]⁺. Found: 701.625 Da

UV-vis (CH₂Cl₂): λ_{max} (nm) (ε, 10³ M⁻¹ cm⁻¹) 417 (241), 516 (11), 552 (6), 592 (4), 647 (4)

IR: ν̄ (cm⁻¹): 1691 (ν_{C=O}), 2600-3200 (ν_{O-H})

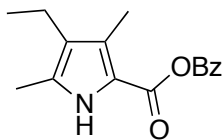
3-Ethylpentan-2,4-dione**12****Exact mass = 128.084 g.mol⁻¹****Molar mass = 128.169 g.mol⁻¹**

The reaction was carried out under a nitrogen atmosphere. Potassium carbonate K_2CO_3 (85.4 g, 617 mmol, 1.0 eq), pentan-2,4-dione (63.0 mL, 617 mmol, 1.0 eq) and iodoethane (62.0 mL, 775 mmol) were dissolved in acetone (270 mL). The mixture was stirred and heated to reflux for 48 h. The mixture was filtered and the filtrate was removed under reduced pressure. The yellow liquid was purified by distillation to afford the desired pure product **12** as a colorless liquid (59.3 g, 75%).

¹H NMR (300.13 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 0.85 (t, 3H, $^3J = 7.5$ Hz, CH_2CH_3), 1.83 (m, 2H, CH_2CH_3), 2.13 (s, 6H, COCH_3), 3.50 (t, 1H, $^3J = 7.5$ Hz, $\text{OC-CH}_2\text{-CO}$)

2-Benzoyloxycarbonyl-4-ethyl-3,5-dimethylpyrrole

13

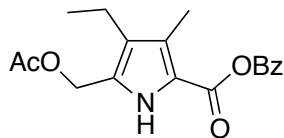
Exact mass = 271.121 g.mol⁻¹Molar mass = 271.311 g.mol⁻¹

In a reactor of 8 L, benzyl acetoacetate (375 mL, 2.14 mol, 1.3 eq) was dissolved in acetic acid (1.15 L). Sodium nitrite NaNO₂ (171 g, 2.48 mol, 1.5 eq) dissolved in water was added over 3 h with a peristaltic pump. The mixture was stirred and cooled at 4 °C for 18 h. The oxime obtained is put in a dropping funnel. In the reactor of 8 L, acetic acid (500 mL) then 3-ethylpentan-2,4-dione **12** (209.4 g, 1.63 mol, 1.0 eq) were added. The mixture was stirred and heated to 65 °C. The oxime was added dropwise (1.5 L over 2 h). A mixture of zinc powder (165 g, 2.53 mol, 1.6 eq) and sodium acetate (165 g, 2.01 mol, 1.2 eq) was added. The mixture was stirred at 65 °C for 4 h, then poured hot over a large amount of ice. A brown precipitate formed. The product was extracted three times with dichloromethane (3x500 mL), washed three times with water (3x2 L) and dried over magnesium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure. The solid was washed with cold methanol (-10 °C). The product **13** was obtained as crystals (100.7 g, 24%).

¹H NMR (300.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 1.02 (t, 3H, ³J = 7.5 Hz, CH₂CH₃), 2.17 (s, 3H, CH₃), 2.35 (q, 2H, ³J = 7.5 Hz, CH₂CH₃), 5.26 (s, 2H, O-CH₂C₆H₅), 7.35 (m, 5H, C₆H₅), 8.49 (br s, 1H, NH)

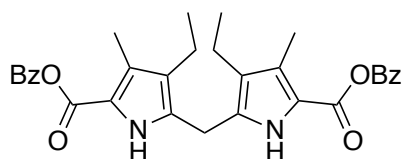
5-Acetoxymethyl-2-benzyloxycarbonyl-4-ethyl-3-methylpyrrole

14

Exact mass = 329.126 g.mol⁻¹Molar mass = 329.347 g.mol⁻¹

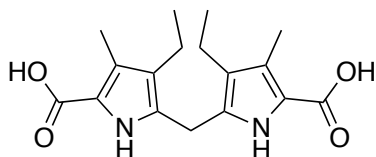
In a reactor of 8 L, acetic acid (2.5 L) then pyrrole **13** (101.2 g, 393 mmol, 1.0 eq) and acetic anhydride (44 mL, 466 mmol, 1.2 eq) were added. The mixture was stirred at room temperature for 15 min. Lead acetate (202.2 g, 456 mmol, 1.2 eq) was added. The mixture was stirred at 80 °C for 4 h, then poured hot over a large amount of ice. A white precipitate formed. The precipitate was left in ice for 2 h, then filtered. The solid was washed with heptane to discoloration and dried under vacuum. The desired product **14** was obtained as a white solid (116.5 g, 94%).

¹H NMR (300.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 1.05 (t, 3H, ³J = 7.5 Hz, CH₂CH₃), 2.04 (s, 3H, CH₃), 2.27 (s, 3H, CH₃-COO), 2.44 (q, 2H, ³J = 7.5 Hz, CH₂CH₃), 5.00 (s, 2H, AcO-CH₂), 5.28 (s, 2H, O-CH₂C₆H₅), 7.95 (m, 5H, C₆H₅), 8.97 (br s, 1H, NH)

1,9-Dibenzyloxycarbonyl-3,7-diethyl-2,8-dimethyldipyrromethane**15**Exact mass = 526.210 g.mol⁻¹Molar mass = 526.580 g.mol⁻¹

In a reactor of 8 L, pyrrole **14** (117.0 g, 371 mmol, 1.0 eq) was dissolved in ethanol (2 L). The mixture was stirred and heated to 50 °C. Hydrochloric acid (78 mL, 936 mmol, 2.5 eq) dissolved in ethanol (100 mL) was added. The mixture was heated to reflux for 3 h. The product was left to crystallize at 4 °C for 18 h. The brown crystals were filtered and washed with a mixture of ethanol-water (1:1) at 5 °C and dried under vacuum. The desired product **15** was obtained as a solid (56.0 g, 61%).

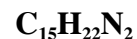
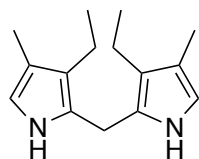
¹H NMR (300.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 1.01 (t, 6H, ³J = 7.5 Hz, CH₂CH₃), 2.26 (s, 6H, CH₃), 2.39 (q, 4H, ³J = 7.5 Hz, CH₂CH₃), 3.78 (s, 2H, Pyrr-CH₂-Pyrr), 5.21 (s, 4H, O-CH₂C₆H₅), 7.29 (m, 10H, C₆H₅), 9.98 (br s, 2H, NH)

1,9-Dicarboxy-3,7-diethyl-2,8-dimethyldipyrromethane**16**

$\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$
Exact mass = 318.158 g.mol⁻¹
Molar mass = 318.368 g.mol⁻¹

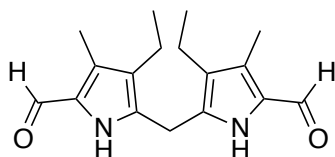
Dipyrromethane **15** (40.0 g, 80 mmol, 1.0 eq) and triethylamine (2.0 mL, 8.93 mmol, 0.1 eq) were dissolved in tetrahydrofuran degassed (1 L). After three cycles vacuum/nitrogen, palladium on activated charcoal (2.0 g, 1.88 mmol, 0.02 eq) was added. The mixture was stirred vigorously for 4 h under a hydrogen atmosphere. The mixture was filtered over clarcel and the filtrate was removed under reduced pressure. The desired product **16** was obtained as a brown powder.

¹H NMR (300.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 1.07 (t, 6H, ³J = 7.5 Hz, CH₂CH₃), 2.28 (s, 6H, CH₃), 2.49 (q, 4H, ³J = 7.5 Hz, CH₂CH₃), 3.87 (s, 2H, Pyr-CH₂-Pyr), 11.23 (br s, 2H, NH)

3,7-Diethyl-2,8-dimethyldipyrromethane**17**Exact mass = 230.178 g.mol⁻¹Molar mass = 230.349 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under a bubbling nitrogen. Dipyrrromethane **16** (80 mmol, 1.0 eq) was dissolved in ethanolamine distilled (260 mL). The mixture was stirred at 160 °C for 3 h under a bubbling nitrogen and at the dark, then poured hot over a large amount of ice. The mixture was filtered and the solid was washed with water. The product was dissolved in dichloromethane (300 mL), washed three times with water (3x300 mL) and dried over magnesium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure. The product **17** was obtained as a brown powder (12.5 g, 68%).

¹H NMR (300.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 0.91 (t, 6H, ³*J* = 7.5 Hz, CH₂CH₃), 1.90 (s, 6H, CH₃), 2.28 (q, 4H, ³*J* = 7.5 Hz, CH₂CH₃), 3.63 (s, 2H, Pyrr-CH₂-Pyrr), 6.27 (s, 2H, CH_{pyrr}), 9.69 (br s, 2H, NH)

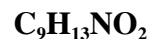
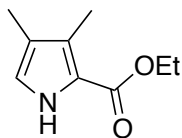
3,7-Diethyl-1,8-diformyl-2,8-dimethyldipyrromethane**18**Exact mass = 286.168 g.mol⁻¹Molar mass = 286.369 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under a nitrogen atmosphere. Dipyrromethane **17** (6.73 g, 29.2 mmol, 1.0 eq) was dissolved in dimethylformamide degassed and dried over molecular sieves (140 mL). At 0 °C and at the dark, phosphoryl trichloride (22 mL, 240 mmol, 8.2 eq) was added dropwise. The mixture was stirred at room temperature for 4 h. The solution was filtered and the solid obtained was dissolved in water (860 mL). A black solution was observed. A solution of sodium hydroxide (25 mL, 10 M) was added dropwise and a white precipitate was obtained. The mixture was stirred vigorously at room temperature for 16 h, filtered and washed with water. The product was dried under vacuum. The dipyrromethane **18** was obtained as a beige powder (7.3 g, 90%).

¹H NMR (300.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 1.07 (t, 6H, ³J = 7.5 Hz, CH₂CH₃), 2.28 (s, 6H, CH₃), 2.48 (q, 4H, ³J = 7.5 Hz, CH₂CH₃), 3.95 (s, 2H, Pyrr-CH₂-Pyrr), 9.48 (s, 2H, CHO), 10.90 (br s, 2H, NH)

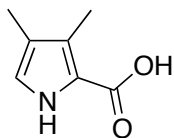
2-Ethoxycarbonyl-3,4-dimethylpyrrole

19

Exact mass = 167.095 g.mol⁻¹Molar mass = 167.205 g.mol⁻¹

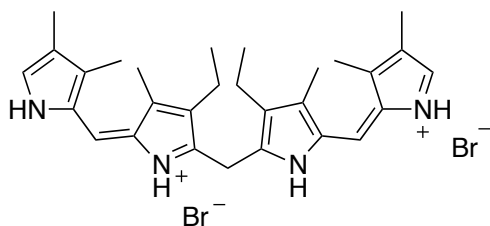
The reaction was carried out under a nitrogen atmosphere. 2-Nitropentan-3-acetate (36.4 g, 207 mmol, 1.0 eq) and ethyl isocyanoacetate (25.0 g, 221 mmol, 1.1 eq) were dissolved in tetrahydrofuran degassed (170 mL) and isopropanol degassed (65 mL). At 0 °C, 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU) (62.9 g, 413 mmol, 2.0 eq) was added dropwise. The mixture was stirred at room temperature for 4 h. The solvent was removed under reduced pressure. Boiling water (250 mL) was added to the residue. The mixture was returned to room temperature and cooled to 4 °C for 18 h. Crystals were filtered and washed with water. The product was recrystallized from methanol, washed with water and dried. The pyrrole **19** was obtained as a beige solid (21.1 g, 61%).

¹H NMR (300.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 1.33 (t, 3H, ³J = 7.1 Hz, OCH₂CH₃), 1.99 (s, 3H, CH₃), 2.25 (s, 3H, CH₃), 4.28 (q, 2H, ³J = 7.1 Hz, OCH₂CH₃), 6.63 (s, 1H, CH_{pyr}), 8.85 (br s, 1H, NH)

1-Carboxyl-2,3-dimethylpyrrole**20****Exact mass = 139.063 g.mol⁻¹****Molar mass = 139.152 g.mol⁻¹**

Pyrrole **19** (10.6 g, 63.5 mmol, 1.0 eq) was dissolved in ethanol (100 mL). A solution of sodium hydroxide (20 mL, 12 M) was added. The mixture was stirred and heated to reflux for 4 h. The solution was cooled with an ice bath and water was added (200 mL). The solution was brought to pH = 5 by slowly adding acetic acid (40 mL). The precipitate was filtered, washed with water and dried. The pyrrole acid **20** was obtained as a white powder (6.2 g, 70%).

¹H NMR (300.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 1.92 (s, 3H, CH₃), 2.16 (s, 3H, CH₃), 6.64 (s, 1H, CH_{pyr}), 11.00 (br s, 1H, NH)

8,12-Diethyl-2,3,7,13,17,18-hexamethyl-*a,c*-biladiène**21**Exact mass = 600.146 g.mol⁻¹Molar mass = 602.447 g.mol⁻¹

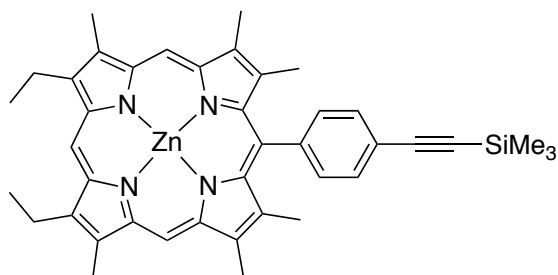
The reaction was carried out under a nitrogen atmosphere. Pyrrole **20** (6.04 g, 43.4 mmol, 2.0 eq) and dipyrromethane **18** (6.18 g, 21.6 mmol, 1.0 eq) were dissolved in ethanol degassed (260 mL). The mixture was heated to reflux for 10 min and hydrobromic acid in acetic acid was added dropwise. The solution turned red. Completion of the reaction was monitored by UV-visible analysis. After 20 min, the solution was cooled with an ice bath, diluted with diethyl ether at - 20 °C, then put in an ice bath for 2 h no agitation. The mixture was filtered, washed cold ether and dried under vacuum. The product **21** was obtained as a black powder (11.48 g, 89%).

¹H NMR (300.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.65 (t, 6H, ³J = 7.5 Hz, CH₂CH₃), 2.07 (s, 6H, CH₃), 2.29 (s, 6H, CH₃), 2.55 (q, 4H, ³J = 7.5 Hz, CH₂CH₃), 5.23 (s, 2H, Pyrr-CH₂-Pyrr), 7.23 (s, 2H, Pyrr-CH-Pyrr), 7.61 (s, 2H, CH_{Pyrr}), 13.28 (br s, 2H, NH), 13.53 (br s, 2H, NH)

UV-vis (CH₂Cl₂): λ_{max} (nm) (ε, 10³ M⁻¹ cm⁻¹) 381 (16), 450 (75), 487 (46), 521 (106)

Zinc 8,12-diethyl-2,3,7,13,17,18-hexamethyl-20-(*p*-(trimethylsilane)ethynylphenyl)porphyrin

23



Exact mass = 684.263 g.mol⁻¹

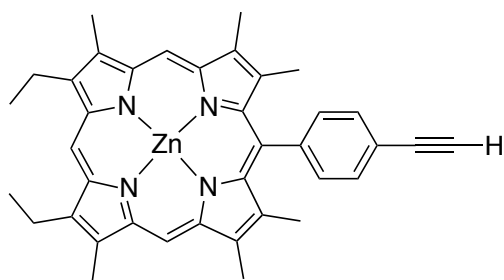
Molar mass = 686.280 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under a bubbling nitrogen. 4-((Trimethylsilyl)ethynyl)benzaldehyde (1.0 g, 4.94 mmol, 1.0 eq) and *a,c*-biladiene **21** (3.0 g, 4.98 mmol, 1.0 eq) were dissolved in ethanol degassed (250 mL). The mixture was heated to reflux for 10 min and *p*-toluenesulfonic acid APTS (4.5 g, 26.13 mmol, 5.3 eq) dissolved in ethanol degassed (75 mL) was added dropwise with a peristaltic pump. The mixture was stirred and heated to reflux for 48 h. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was dissolved in dichloromethane (500 mL), washed three times with water (3x500 mL) and dried over magnesium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by filtration over a silica plug (eluent: dichloromethane). The porphyrin was dissolved in chloroform (350 mL). A mixture of zinc acetate (3.3 g, 15.03 mmol, 3.0 eq) and sodium acetate (4.1 g, 49.98 mmol, 10.1 eq) dissolved in methanol (120 mL) was added. The solution was stirred and heated to reflux for 2 h at the dark. Completion of the reaction was monitored by UV-visible and MALDI-TOF analysis. The mixture was washed three times with water (3x500 mL), dried over magnesium sulfate and the solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by filtration over a silica plug (eluent: dichloromethane) to afford the desired pure porphyrin **23** as a pink powder (881 mg, 26%).

¹H NMR (300.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.35 (s, 9H, SiMe₃), 4.70 (t, 6H, ³*J* = 7.5 Hz, CH₂CH₃), 2.34 (s, 6H, CH₃), 3.37 (s, 6H, CH₃), 3.42 (s, 6H, CH₃), 3.85 (q, 4H, ³*J* = 7.5 Hz, CH₂CH₃), 7.78 (d, 2H, ³*J* = 8.0 Hz, C₆H₄), 7.87 (d, 2H, ³*J* = 8.0 Hz, C₆H₄), 9.57 (s, 1H, H_{meso(10)}), 9.79 (s, 2H, H_{meso(5,15)})

MS (MALDI-TOF): *m/z* calcd for C₄₁H₄₄N₅SiZn⁺: 684.263 Da [M]⁺. Found: 684.073 Da

UV-vis (CH₂Cl₂): λ_{max} (nm) (ε, 10³ M⁻¹ cm⁻¹) 405 (191), 535 (15), 570 (15)

Zinc 8,12-Diethyl-2,3,7,13,17,18-hexamethyl-20-(*p*-ethynylphenyl)porphyrin 24

C₃₈H₃₆N₄Zn
Exact mass = 612.223 g.mol⁻¹
Molar mass = 694.099 g.mol⁻¹

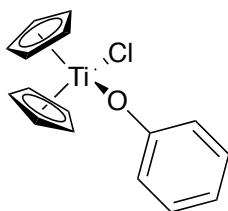
Porphyrin **23** (544 mg, 0.80 mmol, 1.0 eq) was dissolved in tetrahydrofuran (100 mL) and tetrabutylammonium TBAF in solution in tetrahydrofuran (4 mL, 1 M) was added. The mixture was stirred at room temperature for 12 h. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was dissolved in dichloromethane (300 mL), washed three times with water (3x300 mL) and dried over magnesium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by filtration over a silica plug (eluent: dichloromethane) to afford the porphyrin alkyne **24** as a purple powder (352 mg, 72%).

¹H NMR (300.13 MHz, C₆D₆): δ (ppm) 1.83 (t, 6H, ³*J* = 7.5 Hz, CH₂CH₃), 2.50 (s, 6H, CH₃), 2.96 (s, 1H, CH_{alkyne}), 3.40 (s, 6H, CH₃), 3.43 (s, 6H, CH₃), 3.94 (q, 4H, ³*J* = 7.5 Hz, CH₂CH₃), 7.77 (d, 2H, ³*J* = 8.0 Hz, C₆H₄), 7.87 (d, 2H, ³*J* = 8.0 Hz, C₆H₄), 10.02 (s, 1H, H_{meso(10)}), 10.13 (s, 2H, H_{meso(5,15)})

MS (MALDI-TOF): *m/z* calcd for C₃₈H₃₆N₄Zn⁺: 612.223 Da [M]⁺. Found: 611.944 Da

UV-vis (CH₂Cl₂): λ_{max} (nm) (ε, 10³ M⁻¹ cm⁻¹) 405 (167), 534 (9), 570 (9)

Phenoxytitanocene chloride

28Exact mass = 306.029 g.mol⁻¹Molar mass = 306.610 g.mol⁻¹**Synthesis A:**

The reaction was carried out under an argon atmosphere. Titanocene dichloride (351 mg, 1.41 mmol, 1.0 eq) and phenol (261 mg, 2.77 mmol, 2.0 eq) were dissolved in dichloromethane distilled (15 mL). Triethylamine (0.50 mL, 3.59 mmol, 2.5 eq) was added dropwise. The mixture was stirred at room temperature for 24 h. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography under argon (eluent: tetrahydrofuran/toluene (1:5)) to afford the titanocene **28** as a dark orange powder (324 mg, 75%).

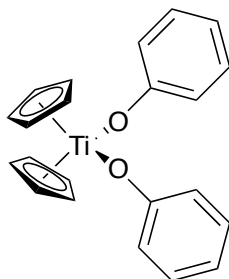
Synthesis B:

The reaction was carried out under an argon atmosphere. Phenol (110 mg, 1.17 mmol, 1.0 eq) and diethylamine (0.25 mL, 2.42 mmol, 2.1 eq) were dissolved in tetrahydrofuran distilled (5 mL). A solution of titanocene dichloride (291 mg, 1.17 mmol, 1.0 eq) in tetrahydrofuran distilled (5 mL) was added slowly. The mixture was stirred at room temperature for 4 h. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was dissolved in dichloromethane distilled (4 mL) and salts were filtered to afford the titanocene **28** as a dark orange powder (330 mg, 92%).

¹H NMR (300.13 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) 6.37 (s, 10H, H_{Cp}), 6.59 (d, 2H, ³J = 8.6 Hz, *o*-C₆H₅O), 6.81 (d, 1H, ³J = 7.3 Hz, *p*-C₆H₅O), 7.21 (t, 2H, ³J = 8.6 Hz, *m*-C₆H₅O)

Bisphenoxytitanocene

27



$\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{O}_2\text{Ti}$
 Exact mass = 364.094 g.mol⁻¹
 Molar mass = 364.260 g.mol⁻¹

Synthesis A:

The reaction was carried out under an argon atmosphere. Sodium hydride (94 mg, 3.72 mmol, 2.0 eq) was dissolved in tetrahydrofuran distilled (7 mL) and phenol (351 mg, 3.73 mmol, 2.0 eq) was added. The mixture was stirred at room temperature for 2 h. At - 30 °C, a solution of titanocene dichloride (464 mg, 1.86 mmol, 1.0 eq) in tetrahydrofuran distilled (11 mL) was added dropwise. The mixture was returned to room temperature and stirred for 24 h. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography under argon (eluent: tetrahydrofuran/toluene (1:10)) to afford the titanocene **27** as a orange powder (447 mg, 66%).

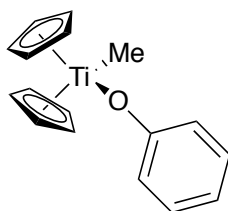
Synthesis B:

The reaction was carried out under an argon atmosphere. Titanocene dichloride (300 mg, 1.20 mmol, 1.0 eq) and diethyl ether distilled (30 mL) was mixed. At - 78 °C, butyllithium (1.50 mL, 1.6 M, 2.40 mmol, 2.0 eq) was added dropwise. The mixture was returned to room temperature and stirred for 1 h. At room temperature, a solution of phenol (228 mg, 2.42 mmol, 2.0 eq) in tetrahydrofuran distilled (10 mL) was added slowly. The mixture was stirred at room temperature for 18 h. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography under argon (eluent: tetrahydrofuran/toluene (1:10)) to afford the titanocene **STA66** as a orange powder (328 mg, 75%).

¹H NMR (300.13 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) 6.29 (s, 10H, H_{Cp}), 6.64 (d, 4H, ³J = 8.5 Hz, *o*-C₆H₅O), 6.78 (d, 2H, ³J = 7.3 Hz, *p*-C₆H₅O), 7.21, (t, 4H, ³J = 8.5 Hz, *m*-C₆H₅O)

HR-MS (ESI): m/z calcd for C₂₂H₂₀O₂Ti + Na⁺: 387.08370 Da [M+Na]⁺. Found: 387.08538 Da

Methyl phenoxytitanocene

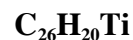
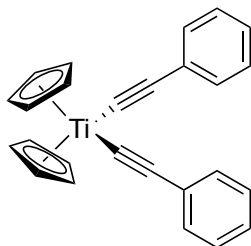
30Exact mass = 286.084 g.mol⁻¹Molar mass = 286.191 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. Titanocene dichloride (315 mg, 1.27 mmol, 1.0 eq) and diethyl ether distilled (40 mL) was mixed. At - 50 °C, methyllithium (1.6 mL, 1.6 M, 2.56 mmol, 2.0 eq) was added dropwise. The mixture was returned to room temperature and stirred for 1 h. At room temperature, a solution of phenol (241 mg, 2.56 mmol, 2.0 eq) in tetrahydrofuran distilled (10 mL) was added dropwise. The mixture was stirred at room temperature for 18 h. The solvent was removed under reduced pressure. The titanocene **30** was obtained as a orange powder.

¹H NMR (300.13 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) 0.84 (s, 3H, CH₃), 6.01 (s, 10H, H_{cp}), 6.31 (d, 2H, ³J = 8.5 Hz, *o*-C₆H₅O), 6.72 (d, 1H, ³J = 7.3 Hz, *p*-C₆H₅O), 7.13, (t, 2H, ³J = 8.5 Hz, *m*-C₆H₅O)

Bis(phenylethynyl)titanocene

34

Exact mass = 380.104 g.mol⁻¹Molar mass = 380.304 g.mol⁻¹**Synthesis A:**

The reaction was carried out under an argon atmosphere. Phenylacetylene (0.20 mL, 1.82 mmol, 2.0 eq) was dissolved in tetrahydrofuran distilled (5 mL). At - 78 °C, butyllithium (1.3 mL, 1.6 M, 1.95 mmol, 2.1 eq) was added dropwise. The mixture was stirred at - 78 °C for 30 min. An other solution of titanocene dichloride (229 mg, 0.92 mmol, 1.0 eq) in tetrahydrofuran distilled (10 mL) was prepared. At - 78 °C, the solution of phenylacetylene was added to the solution of titanocene. The mixture was stirred at - 78 °C for 2 h then at room temperature for 2 h. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was dissolved in toluene distilled (10 mL) and salts were filtered. Pentane distilled (30 mL) was added and the product **34** crystallized as dark orange crystals (196 mg, 56%).

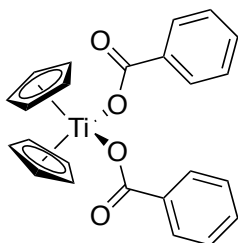
Synthesis B:

The reaction was carried out under an argon atmosphere. Titanocene dichloride (167 mg, 0.67 mmol, 1.0 eq) and diethyl ether distilled (20 mL) was mixed. At - 50 °C, methyllithium (0.85 mL, 1.6 M, 1.34 mmol, 2.0 eq) was added dropwise. The mixture was returned to room temperature and stirred for 1 h. The solvent was removed under reduced pressure. Dimethyltitanocene was dissolved in toluene distilled (2 mL). At room temperature, phenylacetylene (148 µL, 1.34 mmol, 2.0 eq) was added. The key of Schlenk was closed and the mixture was stirred at 45 °C for 24 h. The solvent was removed under reduced pressure. The titanocene **34** was obtained as a dark orange solid.

¹H NMR (300.13 MHz, C₆D₆): δ (ppm) 6.13 (s, 10H, H_{Cp}), 7.01-7.42 (m, 10H, C₆H₅)

Bisbenzoatetitanocene

36

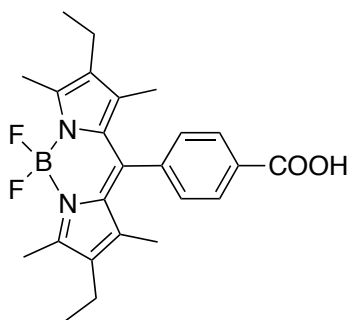


$\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{O}_4\text{Ti}$
 Exact mass = 420.084 g.mol⁻¹
 Molar mass = 420.280 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. Benzoic acid (184 mg, 1.51 mmol, 2.0 eq) and titanocene dichloride (190 mg, 0.76 mmol, 1.0 eq) were dissolved in dichloromethane distilled (10 mL). Triethylamine distilled (0.25 mL, 1.80 mmol, 2.4 eq) was added. The mixture was stirred at room temperature for 3 h. Ammonium salts were filtered and the solvent was removed under reduced pressure to afford the titanocene **36** as a yellow powder (300 mg, 94%).

¹H NMR (500.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 6.46 (m, 5H, H_{Cp}), 6.55 (m, 5H, H_{Cp}), 7.49 (m, 4H, *m*-C₆H₅COO), 7.61 (m, 2H, *p*-C₆H₅COO), 7.94 (m, 4H, *o*-C₆H₅COO)

IR: $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 1293 (ν_{C-O}), 1630 (ν_{C=O})

4,4-Difluoro-8-(4-carboxyphenyl)-1,3,5,7-tetramethyl-2,6-diethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene
50

Exact mass = 424.213 g.mol⁻¹

Molar mass = 424.291 g.mol⁻¹

2,4-Dimethylethylpyrrole (9.5 g, 77.4 mmol, 2.0 eq) and 4-carboxybenzaldehyde (5.8 g, 38.7 mmol, 1.0 eq) were dissolved in dichloromethane (2.5 L). Trifluoroacetic acid (303 μL , 4.0 mmol, 0.1 eq) was added and the mixture was stirred at room temperature for 48 h. A solution of DDQ (8.8 g, 38.8 mmol, 1.0 eq) in dichloromethane (500 mL) was added and the mixture was stirred for 1 h. Triethylamine (78 mL, 585 mmol, 15.1 eq) and boron trifluoride diethyl etherate (78 mL, 617 mmol, 15.9 eq) were added and the solution turned purple. After 2 h of stirring, the mixture was washed three times with water (3x2 L), dried over magnesium sulfate and the solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (eluent: ethyl acetate/hexane (9:1)) to afford the compound **50** as a red solid (9.2 g, 56%).

¹H NMR (300.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.96 (t, 6H, $^3J = 7.5$ Hz, CH₂CH₃), 1.25 (s, 6H, CH₃), 2.23 (q, 4H, $^3J = 7.5$ Hz, CH₂CH₃), 2.52 (s, 6H, CH₃), 7.44 (d, 2H, $^3J = 8.3$ Hz, C₆H₄), 8.21 (d, 2H, $^3J = 8.3$ Hz, C₆H₄COOH)

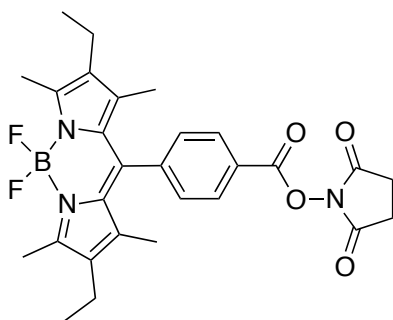
¹³C{¹H} NMR (75.5 MHz, CDCl₃): 11.8 (s, 2C, CH₃), 12.6 (s, 2C, CH₃), 14.6 (s, 2C, CH₂CH₃), 17.1 (s, 2C, CH₂CH₃), 129.1 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 130.0 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 130.4 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 131.1 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 133.4 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 138.3 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 138.7 (s, 1C, C_{BODIPY}), 141.8 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 154.6 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 170.9 (s, 1C, C_{CO})

HR-MS (ESI): m/z calcd for C₂₄H₂₇BF₂N₂O₂ - H⁺: 423.20499 Da [M-H]⁺. Found: 423.20343 Da

UV-vis (CH₃CN): λ_{max} (nm) (ϵ , 10³ M⁻¹ cm⁻¹) 378 (7), 491 (sh, 24), 523 (73)

IR: $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) 1190 ($\nu_{\text{C-O}}$), 1734 ($\nu_{\text{C=O}}$), 3354-3481 ($\nu_{\text{O-H}}$)

Elemental analysis: calcd for C₂₄H₂₇BF₂N₂O₂: C (61.94%), H (6.41%), N (6.60%). Found: C (61.17%), H (6.72%), N (6.34%)

4,4-Difluoro-8-(4-((succinimid-*N*-yl)oxycarbonyl)phenyl)-1,3,5,7-tetramethyl-2,6-diethyl-4-bora-3a,4a-diaza-*s*-indacene **52**


C₂₈H₃₀BF₂N₃O₄
Exact mass = 521.230 g.mol⁻¹
Molar mass = 521.363 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. BODIPY-acid derivative **50** (566 mg, 1.3 mmol, 1.0 eq), EDC.HCl (513 mg, 2.7 mmol, 2.1 eq), *N*-hydroxysuccinimide (308 mg, 2.7 mmol, 2.1 eq) were dissolved in dichloromethane (150 mL). The mixture was stirred at room temperature for 3 h. Completion of the reaction was monitored by TLC (silica gel, eluent: ethyl acetate/heptane (1:1)). The solution was washed twice with water (2×100 mL), dried over magnesium sulfate and solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (eluent: ethyl acetate/heptane (1:1)) to afford compound **52** as a red powder with green glints (693 mg, > 99%).

Mp: 288-289 °C

¹H NMR (300.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.96 (t, 6H, ³*J* = 7.5 Hz, CH₂CH₃), 1.25 (s, 6H, CH₃), 2.27 (q, 4H, ³*J* = 7.5 Hz, CH₂CH₃), 2.52 (s, 6H, CH₃), 2.93 (s, 4H, CH₂CO), 7.44 (d, 2H, ³*J* = 8.3 Hz, C₆H₄), 8.21 (d, 2H, ³*J* = 8.3 Hz, C₆H₄)

¹³C{¹H} NMR (75.5 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 12.1 (s, 2C, CH₃), 12.7 (s, 2C, CH₃), 14.6 (s, 2C, CH₃CH₂), 17.3 (s, 2C, CH₃CH₂), 25.7 (s, 2C, CH₂CO), 125.6 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 129.3 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 131.2 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 133.3 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 137.7 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 138.0 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 138.7 (s, 1C, C_{BODIPY}), 143.0 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 154.6 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 161.4 (s, 1C, CO₂), 169.2 (s, 2C, CON)

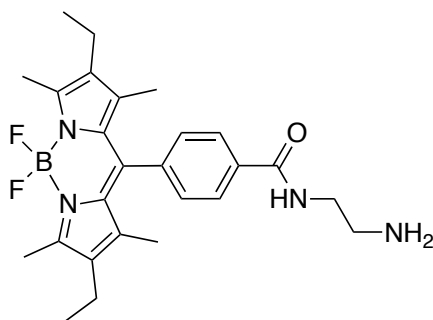
¹¹B NMR (192.5 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.8 (t, ¹*J*_{B-F} = 33.1 Hz)

HR-MS (ESI): *m/z* calcd for C₂₈H₃₀BF₂N₃O₄ + Na⁺: 544.21896 Da [M+Na]⁺. Found: 544.21783 Da

UV-Vis (CH₃CN): λ_{max} (nm) (ε, mol⁻¹.cm⁻¹) 378 (7900), 492 (sh, 23200), 525 (73000)

IR: ν̄ (cm⁻¹) 1190 (ν_{C-O}), 1744 (ν_{C=O}), 1776 (ν_{C=O})

Elemental analysis: calcd for C₂₈H₃₀BF₂N₃O₄: C (68.50%), H (6.67%), N (6.39%). Found: C (68.78%), H (6.87%), N (5.95%)

4,4-Difluoro-8-(4-((2-aminoethyl)carbamoyl)phenyl)-1,3,5,7-tetramethyl-2,6-diethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene
51

C₂₆H₃₃BF₂N₄O
Exact mass = 466.272 g.mol⁻¹
Molar mass = 466.374 g.mol⁻¹

BODIPY-activated ester **52** (314 mg, 0.6 mmol, 1.0 eq) was dissolved in dichloromethane (30 mL). Ethylenediamine (1.60 mL, 23.9 mmol, 39.8 eq) was added. The resulting solution was stirred at room temperature for 16 h. Completion of the reaction was monitored by TLC (silica gel, eluent: ethyl acetate/heptane (1/1)). The solution was washed twice with water (2×50 mL), dried over magnesium sulfate and solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (eluent: ethanol/NH₄OH (4:1)) to afford compound **51** as a red powder with green glints (262 mg, > 99%).

Mp (decomposition): 177-179 °C

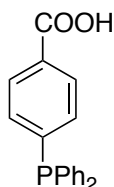
¹H NMR (300.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.99 (t, 6H, ³J = 7.6 Hz, CH₂CH₃), 1.30 (s, 6H, CH₃), 2.32 (q, 4H, ³J = 7.6 Hz, CH₂CH₃), 2.50 (s, 6H, CH₃), 2.97 (t, 2H, ³J = 5.8 Hz, CH₂NH₂), 3.51 (q, 2H, ³J = 5.8 Hz, CONHCH₂), 6.91 (br s, 1H, NH), 7.41 (d, 2H, ³J = 8.1 Hz, C₆H₄), 7.95 (d, 2H, ³J = 8.1 Hz, C₆H₄)

¹³C{¹H} NMR (125.8 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 11.8 (s, 2C, CH₃), 12.5 (s, 2C, CH₃), 14.6 (s, 2C, CH₃CH₂), 17.0 (s, 2C, CH₃CH₂), 42.2 (s, 1C, CH₂NH₂), 43.8 (s, 1C, CONHCH₂), 129.1 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 129.9 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 130.4 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 131.0 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 133.3 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 138.2 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 138.6 (s, 1C, C_{BODIPY}), 141.8 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 154.6 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 171.4 (s, 1C, CO)

¹¹B NMR (192.5 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.8 (t, ¹J_{B-F} = 32.9 Hz)

HR-MS (ESI): m/z calcd for C₂₆H₃₃BF₂N₄O + H⁺: 467.27762 Da [M+H]⁺. Found: 467.27883 Da

IR: $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) 1186 (ν_{C-N}), 1542 (δ_{NH2}), 1636 (ν_{C=O}), 3419 (ν_{N-H})

p*-(Diphenylphosphino)benzoic acid*56**Exact mass = 306.081 g.mol⁻¹Molar mass = 306.295 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an atmosphere of argon. *p*-Iodobenzoic acid (2.00 g, 8.1 mmol, 1.0 eq) and Pd(OAc)₂ (3.3 mg, 0.015 mmol, 0.002 eq) were dissolved in acetonitrile (20 mL). Triethylamine distilled (2.25 mL, 16.1 mmol, 2.0 eq) and diphenylphosphine (1.50 mL, 8.6 mmol, 1.1 eq) were added and the mixture was refluxed for 72 h. The solvent was removed under reduced pressure to obtain a light yellow solid. The solid was dissolved in a 1 M KOH aqueous solution (50 mL) and the solution was washed three times with diethyl ether (3×30 mL). The aqueous layer was acidified with a 2 M HCl aqueous solution (until pH = 2-3). The phosphine precipitated as a yellow solid. Aqueous layer was extracted three times with dichloromethane (3×30 mL). Dichloromethane organic layers were combined and dried over magnesium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure to afford the desired pure product as a light yellow powder (2.22 g, 90%).

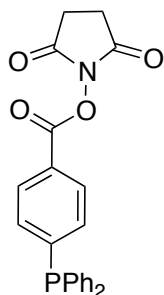
Mp: 150-151 °C**¹H NMR (500.13 MHz, CD₂Cl₂):** δ (ppm) 7.33-7.41 (m, 12H, Ph), 8.03 (m, 2H, C₆H₄-CO)

¹³C{¹H} NMR (75.5 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 128.9 (d, 4C, ³J_{C-P} = 7.1 Hz, CH_{meta}), 129.4 (s, 2C, CH_{para}), 130.0 (d, 2C, ³J_{C-P} = 6.6 Hz, CH_{meta}), 131.7 (s, 1C, C_{C6H4-CO}), 133.3 (d, 2C, ²J_{C-P} = 20.1 Hz, CH_{ortho}), 134.2 (d, 4C, ²J_{C-P} = 20.1 Hz, CH_{ortho}), 136.1 (d, 2C, ¹J_{C-P} = 10.2 Hz, C_{ipso}), 145.5 (d, 1C, ¹J_{C-P} = 14.3 Hz, C_{ipso}), 171.9 (s, 1C, C_{COOH})

³¹P{¹H} NMR (202.5 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) - 4.7**HR-MS (ESI):** m/z calcd for C₁₉H₁₅O₂P - H⁺: 305.07259 Da [M-H]⁻. Found: 305.07199 Da**IR:** $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) = 1296 (ν_{C-O}), 1687 (ν_{C=O}), 2551-3057 (ν_{O-H})

Succinimid-*N*-yl 4-(diphenylphosphino)benzoate

57

Exact mass = 403.097 g.mol⁻¹Molar mass = 403.367 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. *N*-Hydroxysuccinimide (1.34 g, 11.6 mmol, 2.0 eq) and 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDC.HCl, 2.22 g, 11.6 mmol, 2.0 eq) were added to a solution of compound **56** (1.77 g, 5.8 mmol, 1.0 eq) in dichloromethane (15 mL). The reaction was stirred at room temperature for 1 h. The mixture was washed with water degassed (3×10 mL) and the organic layers were dried over magnesium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure to obtain a light yellow powder. The residue was purified by silica gel column chromatography (eluent: dichloromethane) to afford the desired product **57** as a white powder (2.14 g, 92%)

Mp: 174-175 °C

¹H NMR (600.13 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) 2.87 (s, 4H, CH₂), 7.34-7.43 (m, 12H, Ph), 8.05 (m, 2H, C₆H₄-COOR *H*_{ortho})

¹³C{¹H} NMR (125.8 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 25.8 (s, 2C, CH₂), 124.9 (s, 1C, C_{PhCO}), 129.0 (d, 4C, ³*J*_{C-P} = 7.3 Hz, CH_{meta}), 129.6 (s, 2C, CH_{para}), 130.3 (d, 2C, ³*J*_{C-P} = 6.2 Hz, CH_{meta}), 133.5 (d, 2C, ²*J*_{C-P} = 18.2 Hz, CH_{ortho}), 134.2 (d, 4C, ²*J*_{C-P} = 20.1 Hz, CH_{ortho}), 135.8 (d, 2C, ¹*J*_{C-P} = 10.3 Hz, C_{ipso}), 147.6 (d, 1C, ¹*J*_{C-P} = 15.9 Hz, C_{ipso}), 161.9 (s, 1C, C_{COOR}), 169.3 (s, 2C, C_{CON})

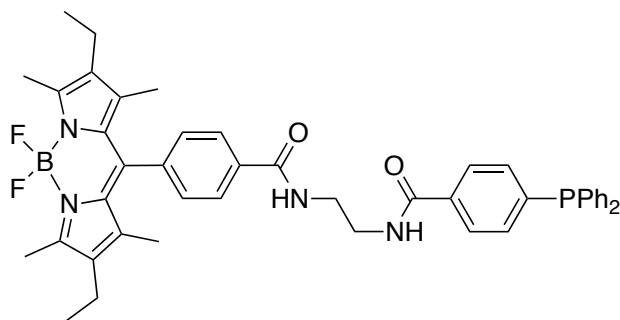
³¹P{¹H} NMR (242.9 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) - 4.3

HR-MS (ESI): *m/z* calcd for C₂₃H₁₈NO₄P + Na⁺: 426.08657 Da [M+Na]⁺. Found: 426.08484 Da

IR: $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 1202 (ν_{C-O}), 1738 (ν_{C=O}), 1761 (ν_{C=O})

4,4-Difluoro-8-(4-((2-(4-(diphenylphosphino)benzamido)ethyl)carbamoyl)phenyl)-1,3,5,7-tetramethyl-2,6-diethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene

58



C₄₅H₄₆BF₂N₄O₂P
Exact mass = 754.342 g.mol⁻¹
Molar mass = 754.654 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. BODIPY-amine derivative **51** (151 mg, 0.32 mmol, 1.0 eq) and triethylamine distilled (0.23 mL, 1.65 mmol, 5.2 eq) were dissolved in chloroform degassed (15 mL). Compound **57** (157 mg, 0.39 mmol, 1.2 eq) was added. The resulting mixture was refluxed for 19 h. Completion of the reaction was monitored by ³¹P NMR (242.9 MHz, 300 K) and by TLC (silica gel, eluent: ethyl acetate). The solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by filtration over a silica plug (eluent: dichloromethane/ethyl acetate (7:3)) to afford BODIPY-derivative **58** as a red powder (179 mg, 73%).

Mp (decomposition): 175-177 °C

¹H NMR (300.13 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) 0.98 (t, 6H, ³J = 7.7 Hz, CH₂CH₃), 1.27 (s, 6H, CH₃), 2.31 (q, 4H, ³J = 7.7 Hz, CH₂CH₃), 2.50 (s, 6H, CH₃), 3.72 (m, 4H, NHCH₂), 7.16 (br s, 1H, NH), 7.29-7.39 (m, 12H, C₆H₄PPh₂), 7.41 (d, 2H, ³J = 8.4 Hz, C₆H₄), 7.76 (dd, 2H, ³J = 8.3 Hz, ³J_{H-P} = 1.4 Hz, C₆H₄CONH), 7.95 (d, 2H, ³J = 8.2 Hz, C₆H₄CONH)

¹³C{¹H} NMR (125.8 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 12.0 (s, 2C, CH₃), 12.7 (s, 2C, CH₃), 14.7 (s, 2C, CH₃CH₂), 17.2 (s, 2C, CH₃CH₂), 41.0 (s, 1C, CH₂NH), 41.8 (s, 1C, CH₂NH), 127.0 (d, 2C, ³J_{C-P} = 6.8 Hz, CH_{Ar-P}), 128.0 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 128.8 (d, 4C, ³J_{C-P} = 7.3 Hz, CH_{Ph-P}), 129.0 (s, 2C, CH_{Ph-P}), 129.3 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 130.5 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 133.2 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 133.6 (d, 2C, ²J_{C-P} = 18.7 Hz, C_{Ar-P}), 133.8 (s, 1C, C_{Ar-P}), 134.0 (d, 4C, ²J_{C-P} = 20.0 Hz, CH_{Ph-P}), 134.3 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 136.3 (d, 2C, ¹J_{C-P} = 10.7 Hz, C_{Ph-P}), 138.3 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 138.9 (s, 1C, C_{BODIPY}), 139.5 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 142.8 (d, 1C, ¹J_{C-P} = 13.7 Hz, C_{Ar-P}), 154.3 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 167.9 (s, 1C, CO), 168.9 (s, 1C, CO)

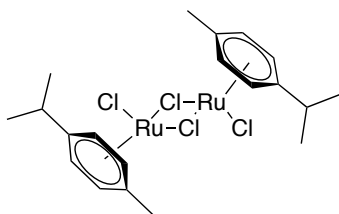
³¹P{¹H} NMR (242.9 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) - 5.5

¹¹B NMR (192.5 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.79 (t, ¹J_{B-F} = 33.7 Hz)

HR-MS (ESI): m/z calcd for C₄₅H₄₆BF₂N₄O₂P + Na⁺: 777.33117 Da [M+Na]⁺. Found: 777.32996 Da

UV-Vis (DMSO): λ_{max} (nm) (ε, M⁻¹ cm⁻¹) 378 (6500), 492 (sh, 17900), 526 (55300)

IR: ν̄ (cm⁻¹) 1636 (ν_{C=O}), 3415 (ν_{N-H})

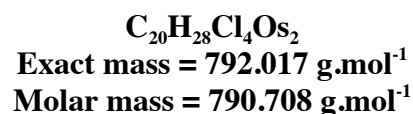
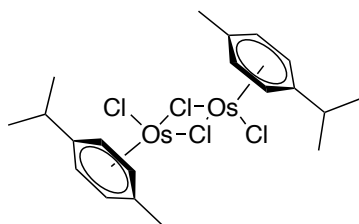
Dichloro(*p*-cymene)ruthenium(II) dimer**61**Exact mass = 611.903 g.mol⁻¹Molar mass = 612.388 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. Ruthenium(III) chloride hydrate (305 mg, 1.47 mmol, 1.0 eq) was dissolved in ethanol/water (95:5). α -Terpinene (1.20 mL, 7.31 mmol, 5.0 eq) was added. The resulting mixture was refluxed for 15 h. A red precipitate formed. The mixture was concentrated and cooled to 4 °C for 2 h. The precipitate was filtered, washed with diethyl ether and dried under vacuum. The desired product **61** was obtained as a red powder (684 mg, 76%).

¹H NMR (600.13 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) 1.27 (d, 6H, $^3J = 7.0$ Hz, CH(CH₃)₂), 2.12 (s, 3H, CH₃), 2.87 (hept, 1H, $^3J = 7.0$ Hz, CH(CH₃)₂), 5.30 (d, 2H, $^3J = 6.0$ Hz, *p*-cymene-Ru), 5.43 (d, 2H, $^3J = 6.0$ Hz, *p*-cymene-Ru)

Dichloro(*p*-cymene)osmium(II) dimer

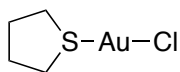
63



The reaction was carried out under an argon atmosphere. Osmium(III) chloride hydrate (1.00 g, 3.38 mmol, 1.0 eq) was dissolved in ethanol/water (95:5). α -Terpinene (2.80 mL, 17.06 mmol, 5.0 eq) was added. The resulting mixture was refluxed for 15 h. A red precipitate formed. The mixture was concentrated and cooled to 4 °C for 2 h. The precipitate was filtered, washed with diethyl ether and dried under vacuum. The desired product **63** was obtained as a khaki green powder (1.79 g, 67%).

¹H NMR (300.13 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) 1.28 (d, 6H, ³*J* = 6.9 Hz, CH(CH₃)₂), 2.18 (s, 3H, CH₃), 2.74 (hept, 1H, ³*J* = 6.9 Hz, CH(CH₃)₂), 6.00 (d, 2H, *J* = 5.9 Hz, *p*-cymene-Os), 6.15 (d, 2H, ³*J* = 5.9 Hz, *p*-cymene-Os)

Chlorotetrahydrothiophen gold(I)

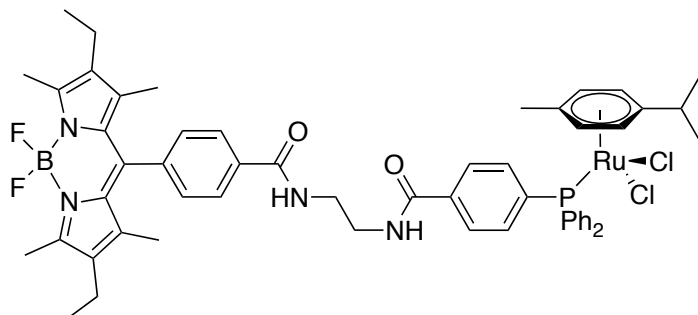
66Exact mass = 319.970 g.mol⁻¹Molar mass = 320.591 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. Tetrachloauric acid hydrate H[AuCl₄]. n H₂O (103 mg, 0.30 mmol, 1.0 eq) was dissolved in ethanol/water (5:1). Tetrahydrothiophene (26.5 mL, 0.30 mmol, 1.0 eq) was added dropwise. The mixture was stirred for 30 min, during which a precipitate was formed. The precipitate was isolated by filtration and washed with absolute ethanol to afford the compound **66** as a white powder (69 mg, 72%).

¹H NMR (500.13 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) 2.18 (m, 4H, CH₂), 3.42 (m, 4H, CH₂S)

HR-MS (ESI): m/z calcd for C₄H₈AuClS + Na⁺: 342.95930 Da [M+Na]⁺. Found: 342.95913 Da

[(η^6 -*p*-Cymene)(4,4-difluoro-8-(4-((2-(4-(diphenylphosphino)benzamido)ethyl) carbamoyl)phenyl)-1,3,5,7-tetramethyl-2,6-diethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene)-RuCl₂]

54

C₅₅H₆₀BCl₂F₂N₄O₂PRu
Exact mass = 1060.294 g.mol⁻¹
Molar mass = 1060.848 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. BODIPY-phosphine derivative **58** (52 mg, 0.06 mmol, 2.0 eq) and [RuCl₂(*p*-cymene)]₂ **61** (19 mg, 0.03 mmol, 1.0 eq) were dissolved in benzene degassed (3 mL). The resulting mixture was stirred at room temperature for 17 h. Completion of the reaction was monitored by ³¹P NMR (242.9 MHz, 300 K). The solvent was removed under reduced pressure. The ruthenium complex **54** was isolated as a bright red powder (65 mg, 89%).

Mp (decomposition): 203-205 °C

¹H NMR (500.13 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) 0.98 (t, 6H, ³J = 7.7 Hz, CH₂CH₃), 1.12 (d, 6H, ³J = 7.0 Hz, (CH₃)₂CH), 1.27 (s, 6H, CH₃), 1.86 (s, 3H, CH₃_{*p*-cymene-Ru}), 2.31 (q, 4H, ³J = 7.7 Hz, CH₂CH₃), 2.50 (s, 6H, CH₃), 2.77 (hept, 1H, ³J = 7.0 Hz, (CH₃)₂CH), 3.69 (m, 4H, NHCH₂), 5.00 (d, 2H, ³J = 6.4 Hz, *p*-cymene-Ru), 5.23 (d, 2H, ³J = 6.4 Hz, *p*-cymene-Ru), 7.27 (br s, 1H, NH), 7.39-7.48 (m, 9H, Ph + NH), 7.73-7.81 (m, 6H, C₆H₄CONH + Ph), 7.89 (t, 2H, ³J = 8.7 Hz, PPh₂), 7.95 (d, 2H, ³J = 8.2 Hz, C₆H₄CONH)

¹³C{¹H} NMR (125.8 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) 12.1 (s, 2C, CH₃), 12.7 (s, 2C, CH₃), 14.8 (s, 2C, CH₃CH₂), 17.4 (s, 2C, CH₃CH₂), 18.0 (s, 1C, CH₃_{*p*-cymene-Ru}), 22.1 (s, 2C, CH(CH₃)₂_{*p*-cymene-Ru}), 30.8 (s, 1C, CH(CH₃)₂_{*p*-cymene-Ru}), 41.2 (s, 1C, CH₂NH), 41.8 (s, 1C, CH₂NH), 87.8 (s, 2C, CH_{*p*-cymene-Ru}), 89.4 (s, 2C, CH_{*p*-cymene-Ru}), 97.0 (s, 1C, C_{*p*-cymene-Ru}), 111.1 (s, 1C, C_{*p*-cymene-Ru}), 126.5 (d, 2C, ³J_{C-P} = 9.9 Hz, CH_{Ar-P}), 128.3 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 128.6 (d, 4C, ³J_{C-P} = 10.1 Hz, CH_{Ph-P}), 129.1 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 130.8 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 131.0 (s, 2C, CH_{Ph-P}), 133.5 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 133.9 (d, 2C, ¹J_{C-P} = 44.9 Hz, C_{Ph-P}), 134.7 (d, 4C, ²J_{C-P} = 9.6 Hz, CH_{Ph-P}), 134.9 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 135.0 (d, 2C, ²J_{C-P} = 9.6 Hz, CH_{Ar-P}), 135.9 (s, 1C, C_{Ar-P}), 137.9 (d, 1C, ³J_{C-P} = 44.5 Hz, C_{Ar-P}), 138.8 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 139.3 (s, 1C, C_{BODIPY}), 139.6 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 154.4 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 167.7 (s, 1C, CO), 168.3 (s, 1C, CO)

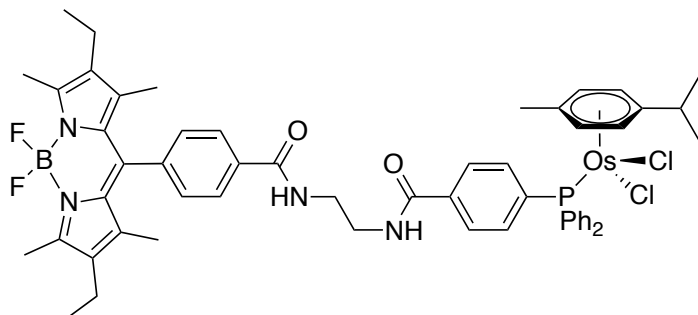
³¹P{¹H} NMR (242.9 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) 25.2

HR-MS (ESI): m/z calcd for C₅₅H₆₀BCl₂F₂N₄O₂PRu + Na⁺: 1083.28278 Da [M+Na]⁺. Found: 1083.28357 Da

UV-Vis (DMSO): λ_{max} (nm) (ε, M⁻¹ cm⁻¹) 492 (sh, 21500), 378 (7900), 526 (70500)

IR: ν̄ (cm⁻¹) 1653 (ν_{C=O}), 3419 (ν_{N-H})

[(η^6 -*p*-Cymene)(4,4-difluoro-8-(4-((2-(4-(diphenylphosphino)benzamido)ethyl) carbamoyl)phenyl)-1,3,5,7-tetramethyl-2,6-diethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene)-OsCl₂]

67

C₅₅H₆₀BCl₂F₂N₄O₂POs
Exact mass = 1150.351 g.mol⁻¹
Molar mass = 1150.008 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. BODIPY-phosphine derivative **58** (51 mg, 0.06 mmol, 2.0 eq) and [OsCl₂(*p*-cymene)]₂ **63** (24 mg, 0.03 mmol, 1.0 eq) were dissolved in benzene degassed (5 mL). The resulting mixture was stirred at room temperature for 15 h. Completion of the reaction was monitored by ³¹P NMR (242.9 MHz, 300 K). The solvent was removed under reduced pressure. The osmium complex **67** was isolated as a red powder (73 mg, 94%).

Mp (decomposition): 195-197 °C

¹H NMR (500.13 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) 0.98 (t, 6H, ³J = 7.6 Hz, CH₂CH₃), 1.16 (d, 6H, ³J = 7.0 Hz, (CH₃)₂CH), 1.27 (s, 6H, CH₃), 1.97 (s, 3H, CH₃ *p*-cymene-Os), 2.31 (q, 4H, ³J = 7.6 Hz, CH₂CH₃), 2.50 (s, 6H, CH₃), 2.68 (hept, 1H, ³J = 7.0 Hz, (CH₃)₂CH), 3.70 (m, 4H, NHCH₂), 5.18 (d, 2H, ³J = 5.8 Hz, C₆H₄-Os), 5.42 (d, 2H, ³J = 5.8 Hz, C₆H₄-Os), 7.23 (br s, 1H, NH), 7.37 (br s, 1H, NH), 7.39-7.46 (m, 8H, Ph), 7.71 (td, 4H, ³J = 8.6 Hz, ⁴J = 1.8 Hz, PPh₂), 7.76 (dd, 2H, ³J = 8.4 Hz, ³J_{H-P} = 1.9 Hz, C₆H₄CONH), 7.87 (t, 2H, ³J = 8.4 Hz, PPh₂), 7.95 (d, 2H, ³J = 8.2 Hz, C₆H₄CONH)

¹³C{¹H} NMR (125.8 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) 12.1 (s, 2C, CH₃), 12.7 (s, 2C, CH₃), 14.8 (s, 2C, CH₃CH₂), 17.4 (s, 2C, CH₃CH₂), 18.0 (s, 1C, CH₃ *p*-cymene-Os), 22.4 (s, 2C, CH(CH₃)₂ *p*-cymene-Os), 30.7 (s, 1C, CH(CH₃)₂ *p*-cymene-Os), 41.2 (s, 1C, CH₂NH), 41.9 (s, 1C, CH₂NH), 80.6 (s, 2C, CH *p*-cymene-Os), 81.0 (s, 2C, CH *p*-cymene-Os), 89.6 (s, 1C, C *p*-cymene-Os), 103.3 (s, 1C, C *p*-cymene-Os), 126.5 (d, 2C, ³J_{C-P} = 10.4 Hz, CH_{Ar-P}), 128.3 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 128.5 (d, 4C, ³J_{C-P} = 10.1 Hz, CH_{Ph-P}), 129.1 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 130.8 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 131.0 (s, 2C, CH_{Ph-P}), 133.5 (d, 2C, ¹J_{C-P} = 52.2 Hz, C_{Ph-P}), 133.5 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 134.9 (d, 4C, ²J_{C-P} = 9.9 Hz, CH_{Ph-P}), 134.9 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 135.2 (d, 2C, ²J_{C-P} = 9.1 Hz, CH_{Ar-P}), 135.8 (s, 1C, C_{Ar-P}), 137.8 (d, 1C, ³J_{C-P} = 49.9 Hz, C_{Ar-P}), 138.9 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 139.3 (s, 1C, C_{BODIPY}), 139.6 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 154.4 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 167.7 (s, 1C, CO), 168.3 (s, 1C, CO)

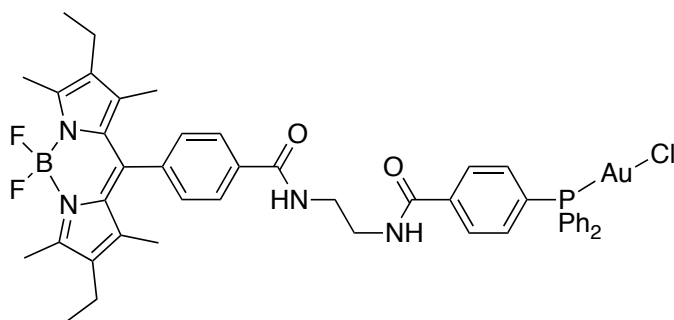
³¹P{¹H} NMR (242.9 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) - 12.4

HR-MS (ESI): m/z calcd for C₅₅H₆₀BCl₂F₂N₄O₂POs + Na⁺: 1173.33991 Da [M+Na]⁺. Found: 1173.33826 Da

UV-Vis (DMSO): λ_{max} (nm) (ε, M⁻¹ cm⁻¹) 378 (7900), 492 (sh, 20100), 526 (66900)

IR: ν̄ (cm⁻¹) 1653 (ν_{C=O}), 3420 (ν_{N-H})

[(4,4-Difluoro-8-(4-((2-(4-(diphenylphosphino)benzamido)ethyl)carbamoyl)phenyl)-1,3,5,7-tetramethyl-2,6-diethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene)-AuCl] **68**



C₄₅H₄₆BClF₂N₄O₂PAu
Exact mass = 986.277 g.mol⁻¹
Molar mass = 987.073 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. BODIPY-phosphine derivative **58** (56 mg, 0.07 mmol, 1.0 eq) and [Au(tht)Cl] **66** (23 mg, 0.07 mmol, 1.0 eq) were dissolved in benzene degassed (7 mL). The resulting mixture was stirred at room temperature for 4 h. Completion of the reaction was monitored by ³¹P NMR (242.9 MHz, 300 K). The solvent was removed under reduced pressure. The gold complex **68** was isolated as a red powder (63 mg, 89%).

Mp (decomposition): 205-207 °C

¹H NMR (500.13 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) 0.98 (t, 6H, ³J = 7.5 Hz, CH₂CH₃), 1.27 (s, 6H, CH₃), 2.31 (q, 4H, ³J = 7.5 Hz, CH₂CH₃), 2.50 (s, 6H, CH₃), 3.74 (m, 4H, NHCH₂), 7.16 (br s, 1H, NH), 7.42 (d, 2H, ³J = 8.3 Hz, C₆H₄), 7.47-7.66 (m, 13H, Ph + NH), 7.92-7.95 (m, 4H, C₆H₄CONH)

¹³C{¹H} NMR (125.8 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) 12.1 (s, 2C, CH₃), 12.7 (s, 2C, CH₃), 14.8 (s, 2C, CH₃CH₂), 17.4 (s, 2C, CH₃CH₂), 41.4 (s, 1C, CH₂NH), 42.1 (s, 1C, CH₂NH), 128.1 (d, 2C, ³J_{C-P} = 11.8 Hz, CH_{Ar-P}), 128.2 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 128.6 (d, 2C, ¹J_{C-P} = 62.6 Hz, C_{Ph-P}), 129.3 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 129.8 (d, 4C, ³J_{C-P} = 12.2 Hz, CH_{Ph-P}), 130.8 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 132.7 (s, 2C, CH_{Ph-P}), 133.0 (d, 1C, ¹J_{C-P} = 61.0 Hz, C_{Ar-P}), 133.6 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 134.6 (d, 4C, ²J_{C-P} = 13.6 Hz, CH_{Ph-P}), 134.7 (d, 2C, ²J_{C-P} = 14.5 Hz, CH_{Ar-P}), 134.8 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 137.9 (s, 1C, C_{Ar-P}), 138.8 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 139.4 (s, 1C, C_{BODIPY}), 139.7 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 154.5 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 167.4 (s, 1C, CO), 168.4 (s, 1C, CO)

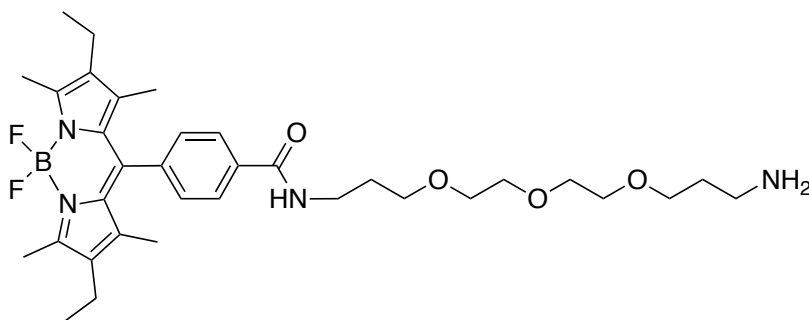
³¹P{¹H} NMR (242.9 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) 32.9

HR-MS (ESI): m/z calcd for C₄₅H₄₆BClF₂N₄O₂PAu + Na⁺: 1009.26658 Da [M+Na]⁺. Found: 1009.26575 Da

UV-Vis (DMSO): λ_{max} (nm) (ε, M⁻¹ cm⁻¹) 378 (7000), 492 (sh, 17800), 526 (59200)

IR: ν̄ (cm⁻¹) = 3335 (ν_{N-H}), 1653 (ν_{C=O})

4,4-Difluoro-8-(4-(((2-aminopolyethyleneglycol)amino)carbonyl)phenyl)-1,3,5,7-tetramethyl-2,6-diethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene

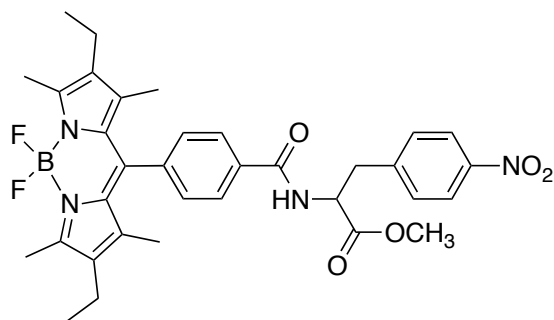
70 $\text{C}_{34}\text{H}_{49}\text{BF}_2\text{N}_4\text{O}_4$ Exact mass = 626.381 g.mol⁻¹Molar mass = 626.585 g.mol⁻¹

BODIPY-activated ester **52** (70 mg, 0.134 mmol, 1.0 eq) and triethylamine (0.1 mL, 0.717 mmol, 5.4 eq) were dissolved in dichloromethane (6.0 mL). Polyethyleneglycol (NH₂-PEG-NHFmoc) (71 mg, 0.148 mmol, 1.1 eq) was added. The resulting solution was stirred at room temperature for 20 h. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (eluent: dichloromethane, ethyl acetate and then ethyl acetate/methanol/ammonia solution (80:15:5)) to afford compound **70** as a red powder with green glints (84 mg, > 99%).

¹H NMR (300.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.96 (t, 6H, ³J = 7.6 Hz, CH₂CH₃), 1.25 (s, 6H, CH₃), 1.90-2.06 (m, 6H, CH₂CH₂CH₂ + NH₂), 2.28 (q, 4H, ³J = 7.6 Hz, CH₂CH₃), 2.52 (s, 3H, CH₃), 3.24 (br t, 2H, ³J = 5.7 Hz, CONH-CH₂), 3.54-3.71 (m, 14H, CH₂CH₂O + OCH₂CH₂O + CH₂NH₂), 7.35 (d, 2H, ³J = 8.3 Hz, C₆H₄), 7.93 (m, 1H, CONH), 8.09 (d, 2H, ³J = 8.3 Hz, C₆H₄CONH)

MS (ESI): m/z calcd for C₃₄H₄₉BF₂N₄O₄ + H⁺: 627.4 Da [M+H]⁺. Found: 627.4 Da

4,4-Difluoro-8-(4-((1-methoxy-3-(4-nitrophenyl)-1-oxopropan-2-yl)carbamoyl)phenyl)-1,3,5,7-tetramethyl-2,6-diethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene 72



$C_{34}H_{37}BF_2N_4O_5$
 Exact mass = 630.283 g.mol⁻¹
 Molar mass = 630.489 g.mol⁻¹

BODIPY-acide **50** (1.29 g, 3.05 mmol, 1.0 eq) was dissolved in anhydrous dimethylformamide (30 mL). HOBt (416 mg, 3.08 mmol, 1.0 eq), DIPEA (2.20 mL, 12.64 mmol, 4.1 eq), EDC.HCl (586 mg, 3.06 mmol, 1.0 eq) and nitrophenylalanine (798 mg, 3.06 mmol, 1.0 eq) were added. The mixture was stirred at room temperature for 12 h. Completion of the reaction was monitored by TLC (silica gel, eluent: ethyl acetate/hexane (6:4)). The solvent was removed under reduced pressure. The residue was dissolved in dichloromethane (100 mL), washed three times with water (3x150 mL), dried over magnesium sulfate and the solvent was removed under reduced pressure. The product was purified by silica gel column chromatography (eluent: ethyl acetate/hexane (1:2) and then ethyl acetate/hexane (1:1)) to afford compound **72** as a red powder with green glints (1.73 g, 90%).

¹H NMR (500.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.98 (t, 6H, ³J = 7.6 Hz, CH₂CH₃), 1.25 (s, 6H, CH₃), 2.30 (q, 4H, ³J = 7.6 Hz, CH₂CH₃), 2.53 (s, 6H, CH₃), 3.36 (dd, 1H, ²J = 13.9 Hz, ³J = 5.3 Hz, CH₂C₆H₄NO₂), 3.46 (dd, 1H, ²J = 13.9 Hz, ³J = 6.2 Hz, CH₂C₆H₄NO₂), 3.81 (s, 3H, OCH₃), 5.16 (m, 1H, CHCH₂C₆H₄NO₂), 6.78 (d, 1H, ³J = 7.1 Hz, CONH), 7.35 (d, 2H, ³J = 8.7 Hz, C₆H₄NO₂), 7.41 (d, 2H, ³J = 8.2 Hz, C₆H₄CONH), 7.88 (d, 2H, ³J = 8.2 Hz C₆H₄CONH), 8.17 (d, 2H, ³J = 8.7 Hz, C₆H₄NO₂)

¹³C{¹H} NMR (125.8 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 12.1 (s, 2C, CH₃), 12.7 (s, 2C, CH₃), 14.7 (s, 2C, CH₂CH₃), 17.2 (s, 2C, CH₂CH₃), 38.1 (s, 1C, CH₂C₆H₄NO₂), 53.0 (s, 1C, OCH₃), 53.7 (s, 1C, CHCH₂C₆H₄NO₂), 123.9 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 127.8 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 129.2 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 130.4 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 130.5 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 133.3 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 133.8 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 138.1 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 138.5 (s, 1C, C_{BODIPY}), 140.2 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 143.8 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 147.5 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 154.5 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 166.3 (s, 1C, COOMe), 171.7 (s, 1C, CON)

¹¹B NMR (96.3 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.77 (t, ¹J_{B-F} = 33.1 Hz)

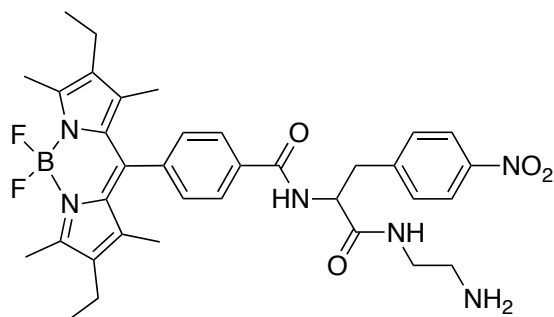
HR-MS (ESI): m/z calcd for C₃₄H₃₇BF₂N₄O₅ + H⁺: 631.29038 Da [M+H]⁺. Found: 631.28650 Da

UV-vis (CH₂Cl₂): λ_{max} (nm) (ε, 10³ M⁻¹ cm⁻¹) 380 (8), 495 (sh, 23), 528 (74)

IR: ν̄ (cm⁻¹) 1185 (ν_{C-N}), 1344 (ν_{C-O}), 1537 (δ_{NH2} + ν_{N-O}), 1664 (ν_{C=O} (amide)), 1743 (ν_{C=O} (ester)), 3271 (ν_{N-H})

Elemental analysis: calcd for C₃₄H₃₇BF₂N₄O₅: C (63.77%), H (5.92%), N (8.89%), Found: C (63.47%), H (6.25%), N (6.63%)

4,4-Difluoro-8-(4-((1-((2-aminoethyl)amino)-3-(4-nitrophenyl)-1-oxopropan-2-yl) carbamoyl)phenyl)-1,3,5,7-tetramethyl-2,6-diethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene **73**



$\text{C}_{35}\text{H}_{41}\text{BF}_2\text{N}_6\text{O}_4$
 Exact mass = 658.325 g.mol⁻¹
 Molar mass = 658.546 g.mol⁻¹

BODIPY-ester **72** (2.31 g, 3.66 mmol, 1.0 eq) and ethylenediamine (15.41 g, 256.41 mmol, 70.0 eq) were dissolved in methanol (110 mL). The mixture was stirred at 55 °C for 48 h. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was dissolved in dichloromethane (700 mL), washed twice with water (2x400 mL), dried over magnesium sulfate and the solvent was removed under reduced pressure. The product was purified by silica gel column chromatography (eluent: dichloromethane/methanol/ammonia solution (80:18:2)) to afford compound **73** as a red powder with green glints (2.41 g, > 99%).

¹H NMR (500.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.98 (t, 6H, ³J = 7.6 Hz, CH₂CH₃), 1.24 (s, 6H, CH₃), 2.29 (q, 4H, ³J = 7.6 Hz, CH₂CH₃), 2.53 (s, 6H, CH₃), 2.75-2.89 (m, 2H, CH₂NH₂), 3.23-3.39 (m, 4H, CH₂C₆H₄NO₂ + CONHCH₂), 4.92 (m, 1H, CHCH₂C₆H₄NO₂), 6.58 (m, 1H, CH₂NH), 7.14 (m, 1H, CHNH), 7.40 (d, 2H, ³J = 8.2 Hz, C₆H₄CONH), 7.48 (d, 2H, ³J = 8.7 Hz, C₆H₄NO₂), 7.90 (d, 2H, ³J = 8.2 Hz C₆H₄CONH), 8.17 (d, 2H, ³J = 8.7 Hz, C₆H₄NO₂)

¹³C{¹H} NMR (125.8 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 12.0 (s, 2C, CH₃), 12.7 (s, 2C, CH₃), 14.7 (s, 2C, CH₂CH₃), 17.2 (s, 2C, CH₂CH₃), 38.9 (s, 1C, CH₂C₆H₄NO₂), 40.8 (s, 1C, (CH₂)₂NH₂), 41.5 (s, 1C, (CH₂)₂NH₂), 55.0 (s, 1C, CHCH₂C₆H₄NO₂), 123.9 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 127.9 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 129.2 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 130.4 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 130.5 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 133.3 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 133.7 (s, 1C, C_{Ar-Bodipy}), 138.1 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 138.5 (s, 1C, C_{BODIPY}), 140.1 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 144.5 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 147.5 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 154.5 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 166.6 (s, 1C, CON), 170.6 (s, 1C, CON)

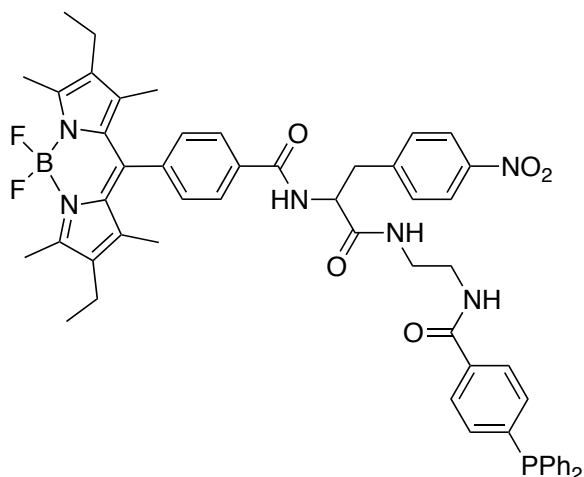
¹¹B NMR (96.3 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.77 (t, ¹J_{B-F} = 33.3 Hz)

HR-MS (ESI): m/z calcd for C₃₅H₄₁BF₂N₆O₄ + H⁺: 659.33293 Da [M+H]⁺. Found: 659.33018 Da

UV-vis (CH₂Cl₂): λ_{max} (nm) (ε, 10³ M⁻¹ cm⁻¹) 379 (8), 495 (sh, 10), 527 (70)

IR: ν̄ (cm⁻¹) 1183 (ν_{C-N}), 1344 (ν_{N-O}), 1537 (δ_{NH2} + ν_{N-O}), 1637 (ν_{C=O}), 3270 (ν_{N-H})

4,4-Difluoro-8-(4-((1-(4-(diphenylphosphino)benzamido)ethyl)-3-(4-nitrophenyl)-1-oxopropan-2-yl)carbamoyl) phenyl)-1,3,5,7-tetramethyl-2,6-diethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene **74**



C₅₄H₅₄O₅N₆BF₂P
Exact mass = 946.395 g.mol⁻¹
Molar mass = 946.825 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. BODIPY-ethylamine **73** (503 mg, 0.85 mmol, 1.0 eq) and triethylamine (0.60 mL, 4.31 mmol, 5.0 eq) were dissolved in chloroform degassed with N_{2liq} (25 mL). Triarylphosphine-activated ester **57** (414 mg, 1.03 mmol, 1.2 eq) was added. The mixture was stirred and heated to reflux for 41 h. Completion of the reaction was monitored by ³¹P NMR (242.9 MHz, 300 K). The solvent was removed under reduced pressure. The product was purified by alumina gel column chromatography (eluent degassed: dichloromethane, dichloromethane/ ethyl acetate (1:9) and then ethyl acetate/methanol (95:5) to afford compound **74** as a red powder (768 mg, 95%).

¹H NMR (500.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.97 (t, 6H, ³J = 7.6 Hz, CH₂CH₃), 1.20 (s, 6H, CH₃), 2.28 (q, 4H, ³J = 7.6 Hz, CH₂CH₃), 2.53 (s, 6H, CH₃), 3.25 (dd, 1H, ²J = 13.7 Hz, ³J = 6.5 Hz, CH₂C₆H₄NO₂), 3.35 (dd, 1H, ²J = 13.7 Hz, ³J = 6.9 Hz, CH₂C₆H₄NO₂), 3.38-3.57 (m, 4H, CONH-(CH₂)₂NHCO), 4.95 (m, 1H, CHCH₂C₆H₄NO₂), 7.05 (m, 1H, CONH), 7.17 (m, 1H, CONH), 7.27-7.38 (m, 16H, PPh₂ + CONH-C₆H₄NO₂ + C₆H₄CONH), 7.45 (m, 1H, CONH), 7.70 (d, 2H, ³J = 8.1 Hz, CONH-C₆H₄-PPh₂), 7.86 (d, 2H, ³J = 8.2 Hz, C₆H₄CONH), 8.05 (d, 2H, ³J = 8.7 Hz, C₆H₄NO₂)

¹³C{¹H} NMR (125.8 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 12.0 (s, 2C, CH₃), 12.7 (s, 2C, CH₃), 14.7 (s, 2C, CH₂CH₃), 17.2 (s, 2C, CH₂CH₃), 38.4 (s, 1C, CH₂C₆H₄NO₂), 40.6 (s, 2C, (CH₂)₂NH), 54.9 (s, 1C, CHCH₂C₆H₄NO₂), 123.8 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 127.0 (d, 2C, ³J_{C-P} = 6.2 Hz, CH_{Ar-P}), 127.9 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 128.8 (d, 4C, ³J_{C-P} = 7.2 Hz, CH_{Ar-P}), 129.1 (s, 2C, CH_{Ph-P}), 129.3 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 130.3 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 130.4 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 132.0 (d, 1C, ⁴J_{C-P} = 10.0 Hz, CH_{Ph-P}), 133.3 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 133.6 (d, 2C, ²J_{C-P} = 18.3 Hz, CH_{Ar-P}), 134.1 (d, 4C, ²J_{C-P} = 20.0 Hz, CH_{Ph-P}), 136.2 (d, 2C, ¹J_{C-P} = 10.7 Hz, C_{Ph-P}), 138.1 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 138.5 (s, 1C, C_{BODIPY}), 140.1 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 143.2 (d, 1C, ¹J_{C-P} = 14.6 Hz, C_{Ar-P}), 144.4 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 147.2 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 154.5 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 166.7 (s, 1C, CON), 168.3 (s, 1C, CON), 171.4 (s, 1C, CON)

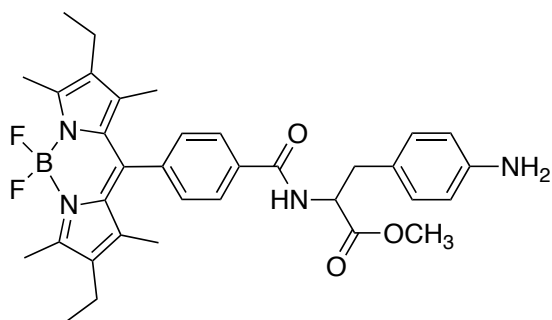
³¹P{¹H} NMR (202.5 MHz, CDCl₃): δ (ppm) - 5.4

¹¹B NMR (160.5 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.78 (t, ¹J_{B-F} = 33.3 Hz)

¹⁹F{¹H} NMR (470.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) - 145.68 (dd, ¹J_{B-F} = 29.1 Hz, ²J_{F-F} = 65.1 Hz)

HR-MS (ESI): m/z calcd for $\text{C}_{54}\text{H}_{54}\text{O}_5\text{N}_6\text{BF}_2\text{P}$ + Na^+ : 969.38556 Da $[\text{M}+\text{Na}]^+$.
Found: 969.38896 Da

4,4-Difluoro-8-(4-((1-methoxy-3-(4-aminophenyl)-1-oxopropan-2-yl)carbamoyl)phenyl)-1,3,5,7-tetramethyl-2,6-diethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene **75**



C₃₄H₃₉BF₂N₄O₃
Exact mass = 600.308 g.mol⁻¹
Molar mass = 600.506 g.mol⁻¹

BODIPY-nitro **72** (149 mg, 0.24 mmol) and Pd/C were dissolved in a mixture of ethanol/dichloromethane (1:1) (25 mL). The reaction was carried out under a dihydrogen atmosphere and stirred vigorously at room temperature and atmospheric pressure for 24 h. The solution was filtered through Celite. The solvent was removed under reduced pressure. The product was purified by silica gel column chromatography (eluent: ethyl acetate/hexane (1:1)) to afford compound **75** as a red powder with green glints (147 mg, > 99%).

¹H NMR (500.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.98 (t, 6H, ³J = 7.6 Hz, CH₂CH₃), 1.26 (s, 6H, CH₃), 2.30 (q, 4H, ³J = 7.6 Hz, CH₂CH₃), 2.54 (s, 6H, CH₃), 3.18 (d, 2H, ³J = 5.5 Hz, CH₂C₆H₄NO₂), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 5.05 (m, 1H, CHCH₂C₆H₄NO₂), 6.63 (m, 3H, C₆H₄NH₂ + CONH), 6.94 (d, 2H, ³J = 8.3 Hz, C₆H₄NH₂), 7.38 (d, 2H, ³J = 8.2 Hz, C₆H₄CONH), 7.86 (d, 2H, ³J = 8.2 Hz, C₆H₄CONH)

¹³C{¹H} NMR (125.8 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 12.1 (s, 2C, CH₃), 12.7 (s, 2C, CH₃), 14.7 (s, 2C, CH₂CH₃), 17.2 (s, 2C, CH₂CH₃), 37.3 (s, 1C, CH₂C₆H₄NH₂), 52.6 (s, 1C, OCH₃), 53.9 (s, 1C, CHCH₂C₆H₄NH₂), 116.7 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 127.2 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 127.9 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 129.0 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 130.4 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 130.5 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 133.2 (s, 1C, C_{ArBodipy}), 154.4 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 166.2 (s, 1C, COOMe), 172.3 (s, 1C, CON)

¹¹B NMR (160.5 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.77 (t, ¹J_{B-F} = 33.1 Hz)

¹⁹F{¹H} NMR (470.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) - 145.70 (dd, ¹J_{B-F} = 32.6 Hz, ²J_{F-F} = 66.7 Hz)

HR-MS (ESI): m/z calcd for C₃₄H₃₉BF₂N₄O₃ + Na⁺: 623.29815 Da [M+Na]⁺. Found: 623.29785 Da

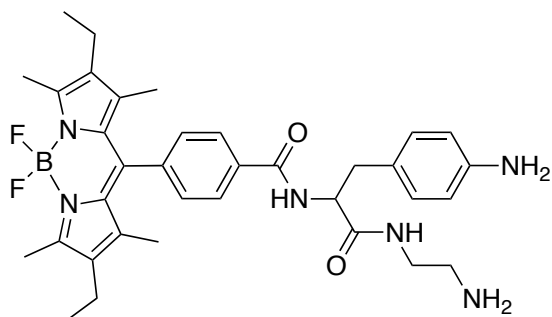
UV-vis (CH₂Cl₂): λ_{max} (nm) (ε, 10³ M⁻¹ cm⁻¹) 379 (6), 495 (sh, 19), 527 (60)

IR: ν̄ (cm⁻¹) 1186 (ν_{C-N} + ν_{C-O}), 1537 (δ_{NH2}), 1654 (ν_{C=O} (amide)), 1739 (ν_{C=O} (ester)), 3355 (ν_{N-H})

Elemental analysis: calcd for C₃₄H₃₉BF₂N₄O₃: C (68.00%), H (6.55%), N (9.33%), Found: C (67.48%), H (7.36%), N (9.07%)

4,4-Difluoro-8-(4-((1-((2-aminoethyl)amino)-3-(4-aminophenyl)-1-oxopropan-2-yl)carbamoyl)phenyl)-1,3,5,7-tetramethyl-2,6-diethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene

76



$C_{35}H_{43}BF_2N_6O_2$
 Exact mass = 628.351 g.mol⁻¹
 Molar mass = 628.563 g.mol⁻¹

Synthesis A:

BODIPY-nitro **73** (502 mg, 0.76 mmol) and Pd/C were dissolved in a mixture of ethanol/dichloromethane (1:1) (25 mL). The reaction was carried out under a dihydrogen atmosphere and stirred vigorously at room temperature and atmospheric pressure for 24 h. The solution was filtered through Celite. The solvent was removed under reduced pressure. The product was purified by silica gel column chromatography (eluent: dichloromethane/methanol/ammonia solution (80:18:2)) to afford compound **76** as a red powder with green glints (344 mg, 72%).

Synthesis B:

BODIPY-ester **75** (1.28 g, 2.13 mmol, 1.0 eq) and ethylenediamine (8.96 g, 149.11 mmol, 70.0 eq) were dissolved in methanol (70 mL). The mixture was stirred at 55 °C for 48 h. The solvent was removed under reduced pressure. The product was purified by silica gel column chromatography (eluent: dichloromethane/methanol/ammonia solution (80:18:2)) to afford compound **76** as a red powder with green glints (1.34 g, > 99%).

¹H NMR (300.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.98 (t, 6H, ³J = 7.6 Hz, CH₂CH₃), 1.25 (s, 6H, CH₃), 2.30 (q, 4H, ³J = 7.6 Hz, CH₂CH₃), 2.53 (s, 6H, CH₃), 2.63-2.79 (d, 2H, CH₂NH₂), 3.13-3.35 (m, 4H, CH₂C₆H₄NH₂ + CONHCH₂), 3.37-3.99 (br s, 3H, NH₃⁺), 4.73 (m, 1H, CHCH₂C₆H₄NH₂), 5.99 (br s, 1H, CONH), 6.66 (d, 2H, ³J = 8.3 Hz, C₆H₄NH₂), 7.07 (m, 3H, C₆H₄NH₂ + CONH), 7.39 (d, 2H, ³J = 8.2 Hz, C₆H₄CONH), 7.91 (d, 2H, ³J = 8.2 Hz, C₆H₄CONH)

¹³C{¹H} NMR (125.8 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 12.0 (s, 2C, CH₃), 12.7 (s, 2C, CH₃), 14.7 (s, 2C, CH₂CH₃), 17.1 (s, 2C, CH₂CH₃), 38.1 (s, 1C, CH₂C₆H₄NH₂), 39.0 (s, 1C, (CH₂)₂NH₂), 40.3.0 (s, 1C, (CH₂)₂NH₂), 56.0 (s, 1C, CHCH₂C₆H₄NH₂), 115.7 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 126.1 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 128.2 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 129.0 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 130.4 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 130.5 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 130.5 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 133.2 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 133.8 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 138.1 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 138.5 (s, 1C, C_{BODIPY}), 139.9 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 145.9 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 154.4 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 162.7 (s, 1C, CON), 166.7 (s, 1C, CON)

¹¹B NMR (160.5 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.78 (t, ¹J_{B-F} = 33.3 Hz)

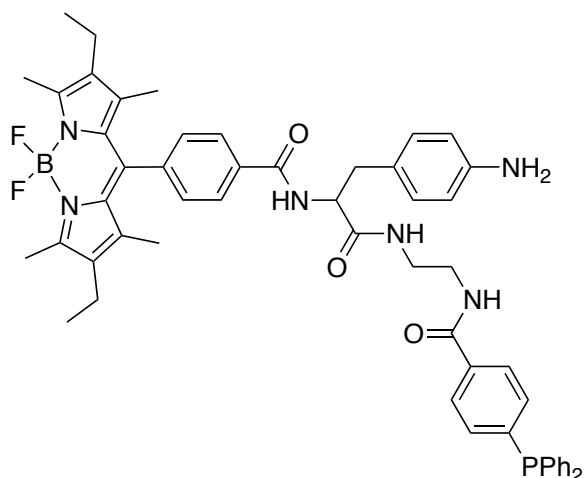
¹⁹F{¹H} NMR (470.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) - 145.70 (dd, ¹J_{B-F} = 31.3 Hz, ²J_{F-F} = 65.9 Hz)

HR-MS (ESI): m/z calcd for C₃₅H₄₃BF₂N₆O₂ + H⁺: 629.35875 Da [M+H]⁺. Found: 629.35668 Da

UV-vis (CH₂Cl₂): λ_{max} (nm) (ε, 10³ M⁻¹ cm⁻¹) 378 (7), 495 (sh, 20), 528 (60)

IR: ν̄ (cm⁻¹) 1185 (ν_{C-N}), 1537 (δ_{NH2}), 1639 (ν_{C=O}), 3289 (ν_{N-H})

4,4-Difluoro-8-(4-((1-(4-(diphenylphosphino)benzamido)ethyl)-3-(4-amino phenyl)-1-oxopropan-2-yl)carbamoyl)phenyl)-1,3,5,7-tetramethyl-2,6-diethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene 77



C₅₄H₅₆O₃N₆BF₂P
Exact mass = 916.421 g.mol⁻¹
Molar mass = 916.842 g.mol⁻¹

Synthesis A:

The reaction was carried out under an argon atmosphere. BODIPY-ethylamine **76** (199 mg, 0.32 mmol, 1.0 eq) and triethylamine (0.18 mL, 1.29 mmol, 4.1 eq) were dissolved in chloroform degassed with N_{2liq} (20 mL). Triarylphosphine-activated ester **57** (115 mg, 0.29 mmol, 0.9 eq) was added. The mixture was stirred and heated to reflux for 48 h. Completion of the reaction was monitored by ³¹P NMR (242.9 MHz, 300 K) and by TLC (alumina gel, eluent: dichloromethane/ethyl acetate (3:7)). The solvent was removed under reduced pressure. The product was purified by alumina gel column chromatography (eluent degassed: dichloromethane, ethyl acetate and then ethyl acetate/methanol (90:10) to afford compound **77** as a red powder (250 mg, 96%).

Synthesis B:

The reaction was carried out under an argon atmosphere. BODIPY-acide **78** (114 mg, 0.19 mmol, 1.0 eq) was dissolved in methanol degassed (20 mL). HOBt (53 mg, 0.39 mmol, 2.0 eq), DIPEA (0.15 mL, 0.86 mmol, 4.4 eq), EDC.HCl (76 mg, 0.40 mmol, 2.0 eq) and phosphine **79** (132 mg, 0.38 mmol, 2.0 eq). The mixture was stirred and heated to reflux for 4 d. Completion of the reaction was monitored by ³¹P NMR (242.9 MHz, 300 K) and by TLC (alumina gel, eluent: ethyl acetate). The solvent was removed under reduced pressure. The product was purified by alumina gel column chromatography (eluent degassed: ethyl acetate and then ethyl acetate/methanol (90:10)). The compound **77** was "isolated" as a red powder (31 mg, 17%).

¹H NMR (500.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.98 (t, 6H, ³J = 7.6 Hz, CH₂CH₃), 1.22 (s, 6H, CH₃), 2.29 (q, 4H, ³J = 7.6 Hz, CH₂CH₃), 2.54 (s, 6H, CH₃), 2.95-3.01 (m, 1H, CH₂C₆H₄NH₂), 3.10-3.17 (m, 1H, CH₂C₆H₄NH₂), 3.37-3.69 (m, 7H, CONH-(CH₂)₂-NHCO + NH₃⁺), 4.70 (m, 1H, CHCH₂C₆H₄NH₂), 6.44 (br s, 1H, CONH), 6.56 (d, 2H, ³J = 8.2 Hz, C₆H₄NH₂), 6.91 (m, 1H, CONH), 7.01 (d, 2H, ³J = 8.2 Hz, C₆H₄NH₂), 7.04 (m, 1H, CONH), 7.26-7.37 (m, 4H, PPh₂ + CONH-C₆H₄-PPh₂ + C₆H₄CONH), 7.74 (d, 2H, ³J = 7.8 Hz, CONH-C₆H₄-PPh₂), 7.83 (d, 2H, ³J = 8.2 Hz, C₆H₄CONH)

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (125.8 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 12.1 (s, 2C, CH_3), 12.7 (s, 2C, CH_3), 14.7 (s, 2C, CH_2CH_3), 17.2 (s, 2C, CH_2CH_3), 38.1 (s, 1C, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 39.8 (s, 1C, CH_2NH), 41.0 (s, 1C, CH_2NH), 55.9 (s, 1C, $\text{CHCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2$), 115.6 (s, 2C, $\text{CH}_{\text{Ar-BODIPY}}$), 126.0 (s, 1C, $\text{C}_{\text{Ar-BODIPY}}$), 127.2 (d, 2C, $^3J_{\text{C-P}} = 6.4$ Hz, $\text{CH}_{\text{Ar-P}}$), 127.9 (s, 2C, $\text{CH}_{\text{Ar-BODIPY}}$), 128.8 (d, 4C, $^3J_{\text{C-P}} = 7.2$ Hz, $\text{CH}_{\text{Ph-P}}$), 129.0 (s, 2C, $\text{CH}_{\text{Ph-P}}$), 129.2 (s, 2C, $\text{CH}_{\text{Ar-BODIPY}}$), 130.3 (s, 2C, $\text{CH}_{\text{Ar-BODIPY}}$), 130.5 (s, 2C, $\text{C}_{\text{Pyrrole}}$), 132.1 (d, 1C, $^4J_{\text{C-P}} = 9.8$ Hz, $\text{CH}_{\text{Ph-P}}$), 133.2 (s, 2C, $\text{C}_{\text{Pyrrole}}$), 133.6 (d, 2C, $^2J_{\text{C-P}} = 18.8$ Hz, $\text{CH}_{\text{Ar-P}}$), 134.0 (s, 1C, $\text{C}_{\text{Ar-BODIPY}}$), 134.0 (d, 4C, $^2J_{\text{C-P}} = 20.0$ Hz, $\text{CH}_{\text{Ph-P}}$), 136.4 (d, 2C, $^1J_{\text{C-P}} = 10.7$ Hz, $\text{C}_{\text{Ph-P}}$), 138.2 (s, 2C, $\text{C}_{\text{Pyrrole}}$), 138.7 (s, 1C, C_{BODIPY}), 139.8 (s, 1C, $\text{C}_{\text{Ar-BODIPY}}$), 142.4 (d, 1C, $^1J_{\text{C-P}} = 13.9$ Hz, $\text{C}_{\text{Ar-P}}$), 145.4 (s, 1C, $\text{C}_{\text{Ar-BODIPY}}$), 154.4 (s, 2C, $\text{C}_{\text{Pyrrole}}$), 166.7 (s, 1C, CON), 167.7 (s, 1C, CON), 172.5 (s, 1C, CON)

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (202.5 MHz, CDCl_3): δ (ppm) - 5.5

^{11}B NMR (160.5 MHz, CDCl_3): δ (ppm) 0.79 (t, $^1J_{\text{B-F}} = 33.3$ Hz)

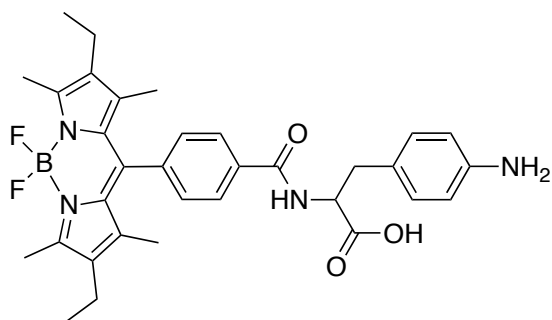
$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ NMR (470.6 MHz, CDCl_3): δ (ppm) - 145.70 (dd, $^1J_{\text{B-F}} = 31.3$ Hz, $^2J_{\text{F-F}} = 65.9$ Hz)

HR-MS (ESI): m/z calcd for $\text{C}_{54}\text{H}_{56}\text{O}_3\text{N}_6\text{BF}_2\text{P} + \text{Na}^+$: 969.41138 Da $[\text{M}+\text{Na}]^+$.
Found: 969.41433 Da

UV-vis (CH_2Cl_2): λ_{max} (nm) (ϵ , $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) 379 (8), 495 (sh, 21), 527 (67)

IR: $\bar{\nu}$ (cm^{-1}) 1187 ($\nu_{\text{C-N}}$), 1536 (δ_{NH_2}), 1637 ($\nu_{\text{C=O}}$), 3305 ($\nu_{\text{N-H}}$)

4,4-Difluoro-8-(4-((1-carboxy-2-(4-aminophenyl)ethyl)carbamoyl)phenyl)-1,3,5,7-tetramethyl-2,6-diethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene

78

C₃₃H₃₇BF₂N₄O₃P
Exact mass = 586.293 g.mol⁻¹
Molar mass = 586.480 g.mol⁻¹

BODIPY-ester **75** (490 mg, 0.82 mmol, 1.0 eq) was dissolved in a mixture of isopropanol/ethanol (95:5) (100 mL). Potassium hydroxide KOH at 0.2 M (16.3 mL, 4.0 eq) was slowly added and the saponification of methyl ester was monitored by TLC (silica gel, eluent: ethyl acetate). The mixture was neutralized with a hydrochloric acid solution (0.2 M) to reach pH = 5.5. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (eluent: ethyl acetate and then ethyl acetate/methanol/ammonia solution (80:16:4)) to afford the compound **78** as a red powder (457 mg, 95%).

¹H NMR (500.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.96 (t, 6H, ³J = 7.6 Hz, CH₂CH₃), 1.23 (s, 6H, CH₃), 2.28 (q, 4H, ³J = 7.6 Hz, CH₂CH₃), 2.52 (s, 6H, CH₃), 2.28 (q, 4H, ³J = 7.6 Hz, CH₂CH₃), 2.52 (s, 6H, CH₃), 3.22 (m, 2H, CH₂C₆H₄NH₂), 4.99 (m, 1H, CHCH₂C₆H₄NH₂), 5.34 (br s, 3H, NH₃⁺), 6.63 (d, 2H, ³J = 7.8 Hz, C₆H₄NH₂), 6.78 (m, 1H, CONH), 7.02 (d, 2H, ³J = 7.8 Hz, C₆H₄NH₂), 7.35 (d, 2H, ³J = 8.1 Hz, C₆H₄CONH), 7.85 (d, 2H, ³J = 8.1 Hz, C₆H₄CONH)

¹³C{¹H} NMR (75.5 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 12.1 (s, 2C, CH₃), 12.7 (s, 2C, CH₃), 14.7 (s, 2C, CH₂CH₃), 17.2 (s, 2C, CH₂CH₃), 36.8 (s, 1C, CH₂C₆H₄NH₂), 54.2 (s, 1C, CHCH₂C₆H₄NH₂), 116.0 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 126.3 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 127.9 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 129.0 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 130.4 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 130.5 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 133.2 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 134.3 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 138.2 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 138.7 (s, 1C, C_{BODIPY}), 139.7 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 144.9 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 154.4 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 166.6 (s, 1C, CO₂), 174.5 (s, 1C, CON)

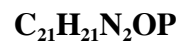
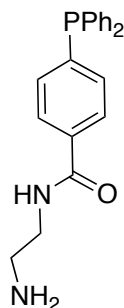
¹¹B NMR (160.5 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 0.77 (t, ¹J_{B-F} = 33.2 Hz)

¹⁹F{¹H} NMR (470.6 MHz, CDCl₃): δ (ppm) - 145.68 (dd, ¹J_{B-F} = 31.3 Hz, ²J_{F-F} = 65.9 Hz)

HR-MS (ESI): m/z calcd for C₃₃H₃₇BF₂N₄O₃P - H⁺: 585.28488 Da [M-H]⁺. Found: 585.28750 Da

UV-vis (CH₂Cl₂): λ_{max} (nm) (ε, 10³ M⁻¹ cm⁻¹) 380 (6), 495 (sh, 17), 527 (49)

IR: ν̄ (cm⁻¹) 1187 (ν_{C-N} + ν_{C-O}), 1538 (δ_{NH2}), 1615 (ν_{C=O}), 3372 (ν_{N-H})

(4-(diphenylphosphino)benzamido)ethylamine**79**Exact mass = 348.139 g.mol⁻¹Molar mass = 348.378 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. Triarylphosphine-activated ester **57** (342 mg, 0.85 mmol, 1.0 eq) was dissolved in chloroform degassed (15 mL). Ethylenediamine (4.0 mL, 59.82 mmol, 70.6 eq) was added. The mixture was stirred and heated to reflux for 24 h. The solvent was removed under reduced pressure. The product **79** was isolated as a yellow-brown paste.

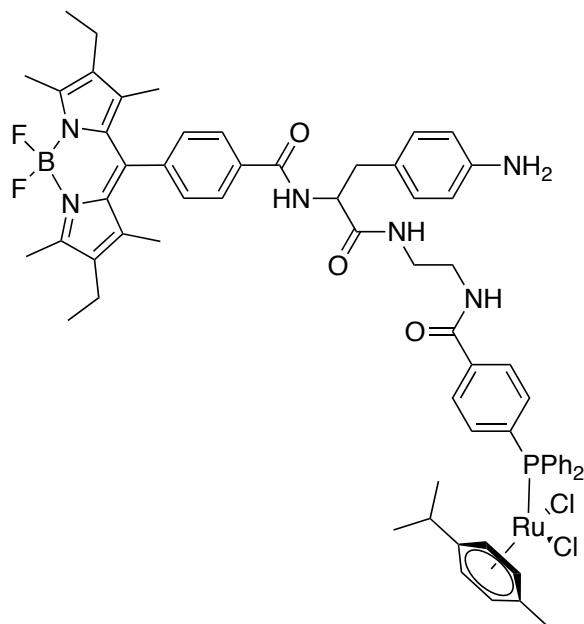
¹H NMR (300.13 MHz, MeOD): δ (ppm) 2.85 (t, 2H, ³J = 6.3 Hz, CH₂NH₂), 3.46 (t, 2H, ³J = 6.3 Hz, CONH-CH₂), 7.26-7.39 (m, 12H, PPh₂ + C₆H₄CONH), 7.79 (d, 2H, ³J = 8.4 Hz, C₆H₄CONH)

³¹P{¹H} NMR (121.5 MHz, MeOD): δ (ppm) - 5.7

HR-MS (ESI): m/z calcd for C₂₁H₂₁N₂OP + H⁺: 349.14643 Da [M+H]⁺. Found: 349.14510 Da

IR: $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) 1306 (ν_{C-N}), 1537 (δ_{NH2}), 1650 (ν_{C=O}), 2936 (ν_{N-H}), 3238 (ν_{N-H})

[(η^6 -*p*-Cymene)(4,4-Difluoro-8-(4-((1-(4-(diphenylphosphino)benzamido)ethyl)-3-(4-aminophenyl)-1-oxopropan-2-yl)carbamoyl)phenyl)-1,3,5,7-tetramethyl-2,6-diethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene)-RuCl₂] **80**



C₆₄H₇₀O₃N₆BCl₂F₂PRu
Exact mass = 1222.373 g.mol⁻¹
Molar mass = 1223.037 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. BODIPY-phosphine derivative **77** (56.3 mg, 0.061 mmol, 2.0 eq) and [RuCl₂(*p*-cymene)]₂ **61** (18.7 mg, 0.030 mmol, 1.0 eq) were dissolved in benzene degassed (2 mL). The resulting mixture was stirred at room temperature for 3 h. Completion of the reaction was monitored by ³¹P NMR (242.9 MHz, 300 K). The solvent was removed under reduced pressure. The ruthenium complex **80** was isolated as a bright red powder (74 mg, > 99%).

¹H NMR (500.13 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) 0.98 (t, 6H, ³*J* = 7.6 Hz, CH₂CH₃), 1.11 (d, 6H, ³*J* = 7.0 Hz, CH(CH₃)₂), 1.26 (s, 6H, CH₃), 1.85 (s, 3H, CH₃_{*p*-cymene-Ru}), 2.31 (q, 4H, ³*J* = 7.6 Hz, CH₂CH₃), 2.50 (s, 6H, CH₃), 2.75 (hept, 1H, ³*J* = 7.0 Hz, CH(CH₃)₂), 2.98 (dd, 1H, ²*J* = 13.6 Hz, ³*J* = 8.2 Hz, CH₂C₆H₄NH₂), 3.11 (dd, 1H, ²*J* = 13.6 Hz, ³*J* = 5.3 Hz, CH₂C₆H₄NH₂), 3.22-3.44 (m, 4H, CONH-(CH₂)₂-NHCO), 4.72 (m, 1H, CHCH₂C₆H₄NH₂), 5.00 (d, 2H, ³*J* = 5.8 Hz, *p*-cymene-Ru), 5.23 (d, 2H, ³*J* = 5.8 Hz, *p*-cymene-Ru), 6.51 (d, 2H, ³*J* = 8.0 Hz, C₆H₄NH₂), 6.61 (br s, 1H, CONH), 6.83 (br s, 1H, CONH), 6.99 (m, 3H, CONH + C₆H₄NH₂), 7.34-7.46 (m, 8H, C₆H₄CONH + PPh₂), 7.57 (m, 2H, CONH-C₆H₄-PPh₂), 7.78 (m, 4H, PPh₂), 7.85-7.89 (m, 4H, C₆H₄CONH + CONH-C₆H₄-PPh₂)

¹³C{¹H} NMR (125.8 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) 12.2 (s, 2C, CH₃), 12.7 (s, 2C, CH₃), 14.8 (s, 2C, CH₂CH₃), 17.4 (s, CH₂CH₃), 18.0 (s, 1C, CH₃_{*p*-cymene-Ru}), 22.1 (s, 2C, CH(CH₃)₂_{*p*-cymene-Ru}), 30.9 (s, 1C, CH(CH₃)₂_{*p*-cymene-Ru}), 38.3 (s, 1C, CH₂C₆H₄NH₂), 40.1 (s, 1C, CH₂NH), 40.8 (s, 1C, CH₂NH), 56.0 (s, 1C, CHCH₂C₆H₄NH₂), 87.8 (s, 2C, CH_{*p*-cymene-Ru}), 89.4 (s, 2C, CH_{*p*-cymene-Ru}), 97.1 (s, 1C, C_{*p*-cymene-Ru}), 111.0 (s, 1C, C_{*p*-cymene-Ru}), 115.5 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 126.5 (d, 2C, ³*J*_{C-P} = 9.7 Hz, CH_{Ar-P}), 128.3 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 128.7 (d, 4C, ³*J*_{C-P} = 9.7 Hz, CH_{Ph-P}), 129.3 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 130.6 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 130.8 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 131.1 (s, 2C, CH_{Ph-P}), 133.6 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 134.1 (d, 2C, ¹*J*_{C-P} = 44.7 Hz, C_{Ph-P}), 134.6 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 134.7 (d, 4C, ²*J*_{C-P} = 9.4 Hz, C_{Ph-P}), 135.0 (d, 2C, ²*J*_{C-P} = 9.2 Hz, C_{Ar-P}), 135.8 (s, 1C, C_{Ar-P}), 137.8 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 138.9 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 139.2 (s, 1C,

C_{BODIPY}), 139.6 (s, 1C, $C_{\text{Ar-BODIPY}}$), 139.6 (d, 1C, $^1J_{\text{C-P}} = 14$ Hz, $C_{\text{Ar-P}}$), 146.4 (s, 1C, $C_{\text{Ar-BODIPY}}$), 154.4 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 166.5 (s, 1C, CON), 167.5 (s, 1C, CON), 172.3 (s, 1C, CON)

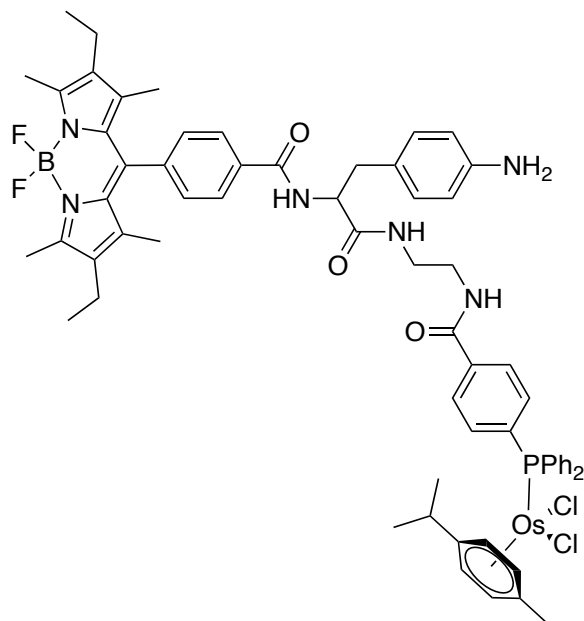
$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (202.5 MHz, CD_2Cl_2): δ (ppm) 25.3

^{11}B NMR (160.5 MHz, CD_2Cl_2): δ (ppm) 0.74 (t, $^1J_{\text{B-F}} = 33.3$ Hz)

$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ NMR (470.6 MHz, CD_2Cl_2): δ (ppm) - 145.64 (dd, $^1J_{\text{B-F}} = 32$ Hz, $^2J_{\text{F-F}} = 66.6$ Hz)

HR-MS (ESI): m/z calcd for $\text{C}_{64}\text{H}_{70}\text{O}_3\text{N}_6\text{BCl}_2\text{F}_2\text{PRu} + \text{Na}^+$: 1245.36399 Da $[\text{M}+\text{Na}]^+$.
Found: 1245.36829 Da

[(η^6 -*p*-Cymene)(4,4-Difluoro-8-(4-((1-(4-(diphenylphosphino)benzamido)ethyl)-3-(4-aminophenyl)-1-oxopropan-2-yl)carbamoyl) phenyl)-1,3,5,7-tetramethyl-2,6-diethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene)-OsCl₂] **81**



C₆₄H₇₀O₃N₆BCl₂F₂POs
Exact mass = 1312.430 g.mol⁻¹
Molar mass = 1312.197 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. BODIPY-phosphine derivative **77** (50.7 mg, 0.055 mmol, 2.0 eq) and [OsCl₂(*p*-cymene)]₂ **63** (21.6 mg, 0.027 mmol, 1.0 eq) were dissolved in benzene degassed (2 mL). The resulting mixture was stirred at room temperature for 3 h. Completion of the reaction was monitored by ³¹P NMR (242.9 MHz, 300 K). The solvent was removed under reduced pressure. The osmium complex **81** was isolated as a bright red powder (66 mg, 93%).

¹H NMR (500.13 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) 0.99 (t, 6H, ³*J* = 7.6 Hz, CH₂CH₃), 1.16 (d, 6H, ³*J* = 6.9 Hz, CH(CH₃)₂), 1.26 (s, 6H, CH₃), 1.96 (s, 3H, CH₃_{*p*-cymene-Os}), 2.32 (q, 4H, ³*J* = 7.6 Hz, CH₂CH₃), 2.50 (s, 6H, CH₃), 2.66 (hept, 1H, ³*J* = 6.9 Hz, CH(CH₃)₂), 2.97 (dd, 1H, ²*J* = 13.6 Hz, ³*J* = 8.2 Hz, CH₂C₆H₄NH₂), 3.11 (dd, 1H, ²*J* = 13.6 Hz, ³*J* = 5.3 Hz, CH₂C₆H₄NH₂), 3.27-3.50 (m, 4H, CONH-(CH₂)₂-NHCO), 4.70 (m, 1H, CHCH₂C₆H₄NH₂), 5.18 (d, 2H, ³*J* = 5.7 Hz, *p*-cymene-Os), 5.42 (d, 2H, ³*J* = 5.7 Hz, *p*-cymene-Os), 6.45 (br s, 1H, CONH), 6.53 (d, 2H, ³*J* = 8.2 Hz, C₆H₄NH₂), 6.80 (br s, 1H, CONH), 6.95 (m, 1H, CONH), 6.98 (d, 2H, ³*J* = 8.2 Hz, C₆H₄NH₂), 7.32-7.45 (m, 8H, C₆H₄CONH + PPh₂), 7.61 (dd, 2H, ³*J* = 8.4 Hz, ³*J*_{H-P} = 1.9 Hz, CONH-C₆H₄-PPh₂), 7.69 (td, 4H, ³*J* = 8.1 Hz, ³*J* = 2.2 Hz, PPh₂), 7.87 (m, 4H, C₆H₄CONH + CONH-C₆H₄-PPh₂)

¹³C{¹H} NMR (125.8 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) 12.2 (s, 2C, CH₃), 12.7 (s, 2C, CH₃), 14.8 (s, 2C, CH₂CH₃), 17.4 (s, CH₂CH₃), 18.0 (s, 1C, CH₃_{*p*-cymene-Os}), 22.4 (s, 2C, CH(CH₃)₂_{*p*-cymene-Os}), 30.7 (s, 1C, CH(CH₃)₂_{*p*-cymene-Os}), 38.3 (s, 1C, CH₂C₆H₄NH₂), 40.2 (s, 1C, CH₂NH), 40.8 (s, 1C, CH₂NH), 56.0 (s, 1C, CHCH₂C₆H₄NH₂), 80.7 (s, 2C, CH_{*p*-cymene-Os}), 81.0 (s, 2C, CH_{*p*-cymene-Os}), 89.8 (s, 1C, C_{*p*-cymene-Os}), 103.2 (s, 1C, C_{*p*-cymene-Os}), 115.5 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 126.4 (d, 2C, ³*J*_{C-P} = 10.1 Hz, CH_{Ar-P}), 128.3 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 128.5 (d, 4C, ³*J*_{C-P} = 10.2 Hz, CH_{Ph-P}), 129.3 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 130.6 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 130.8 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 131.1 (s, 2C, CH_{Ph-P}), 133.5 (d, 2C, ¹*J*_{C-P} = 52.2 Hz, C_{Ph-P}), 133.6 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 134.7 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 134.8 (d, 4C, ²*J*_{C-P} = 9.2 Hz, C_{Ph-P}), 135.2 (d, 2C, ²*J*_{C-P} = 9.2 Hz, CH_{Ar-P}), 135.8 (s, 1C, C_{Ar-P}), 137.5 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 138.9 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 139.2 (s, 1C,

C_{BODIPY}), 139.5 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 139.6 (d, 1C, $^1J_{C-P}$ = 14 Hz, C_{Ar-P}), 146.4 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 154.4 (s, 2C, C_{Pyrrole}), 166.5 (s, 1C, CON), 167.5 (s, 1C, CON), 172.3 (s, 1C, CON)

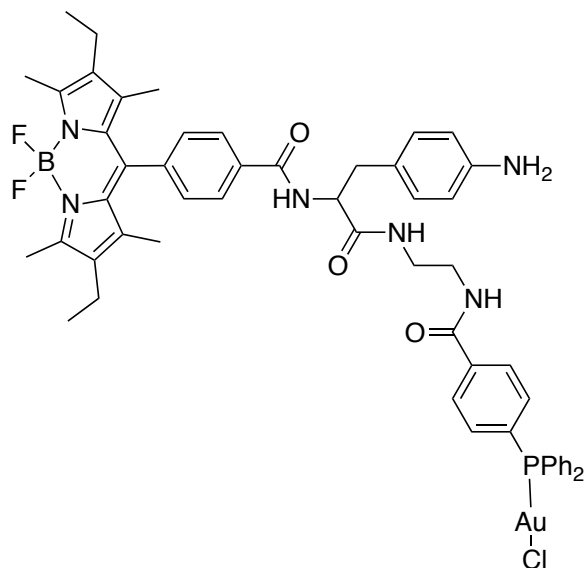
$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (202.5 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) - 12.2

^{11}B NMR (160.5 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) 0.75 (t, $^1J_{B-F}$ = 33.2 Hz)

$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ NMR (470.6 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) - 145.66 (dd, $^1J_{B-F}$ = 32 Hz, $^2J_{F-F}$ = 66.4 Hz)

HR-MS (ESI): m/z calcd for C₆₄H₇₀O₃N₆BCl₂F₂POs + Na⁺: 1335.41857 Da [M+Na]⁺.
Found: 1335.42206 Da

[(4,4-Difluoro-8-(4-((1-(4-(diphenylphosphino)benzamido)ethyl)-3-(4-amino phenyl)-1-oxopropan-2-yl)carbamoyl)phenyl)-1,3,5,7-tetramethyl-2,6-diethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene)-AuCl] **82**



C₅₄H₅₆O₃N₆AuClF₂P
Exact mass = 1148.357 g.mol⁻¹
Molar mass = 1149.262 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. BODIPY-phosphine derivative **77** (49.0 mg, 0.053 mmol, 1.0 eq) and [Au(tht)Cl] **66** (16.9 mg, 0.053 mmol, 1.0 eq) were dissolved in benzene degassed (2 mL). The resulting mixture was stirred at room temperature for 3 h. Completion of the reaction was monitored by ³¹P NMR (242.9 MHz, 300 K). The solvent was removed under reduced pressure. The osmium complex **82** was isolated as a bright red powder (63 mg, > 99%).

¹H NMR (500.13 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) 0.98 (t, 6H, ³J = 7.6 Hz, CH₂CH₃), 1.24 (s, 6H, CH₃), 2.32 (q, 4H, ³J = 7.6 Hz, CH₂CH₃), 2.50 (s, 6H, CH₃), 3.03 (dd, 1H, ²J = 13.9 Hz, ³J = 7.8 Hz, CH₂C₆H₄NH₂), 3.10 (dd, 1H, ²J = 13.9 Hz, ³J = 6.3 Hz, CH₂C₆H₄NH₂), 3.38-3.52 (m, 4H, CONH-(CH₂)₂-NHCO), 4.66 (m, 1H, CHCH₂C₆H₄NH₂), 6.49 (br s, 1H, CONH), 6.59 (d, 2H, ³J = 8.1 Hz, C₆H₄NH₂), 6.85 (br s, 1H, CONH), 7.00 (d, 2H, ³J = 8.1 Hz, C₆H₄NH₂), 7.29 (d, 2H, ³J = 8.2 Hz, C₆H₄CONH), 7.32 (m, 1H, CONH), 7.45-7.56 (m, 10H, PPh₂), 7.60 (d, 1H, ³J = 8.3 Hz, CONH-C₆H₄-PPh₂), 7.63 (d, 1H, ³J = 8.3 Hz, CONH-C₆H₄-PPh₂), 7.81 (d, 2H, ³J = 8.1 Hz, C₆H₄CONH), 7.91 (dd, 2H, ³J = 8.3 Hz, ⁴J_{H-P} = 2.0 Hz, CONH-C₆H₄-PPh₂)

¹³C{¹H} NMR (125.8 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) 12.2 (s, 2C, CH₃), 12.7 (s, 2C, CH₃), 14.8 (s, 2C, CH₂CH₃), 17.4 (s, CH₂CH₃), 37.9 (s, 1C, CH₂C₆H₄NH₂), 40.0 (s, 1C, CH₂NH), 41.5 (s, 1C, CH₂NH), 56.2 (s, 1C, CHCH₂C₆H₄NH₂), 115.8 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 128.2 (d, 2C, ³J_{C-P} = 12.8 Hz, CH_{Ar-P}), 128.2 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 128.6 (d, 2C, ¹J_{C-P} = 62.4 Hz, C_{Ph-P}), 129.3 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 129.8 (d, 4C, ³J_{C-P} = 12.0 Hz, C_{Ph-P}), 130.5 (s, 2C, CH_{Ar-BODIPY}), 130.7 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 132.7 (s, 2H, CH_{Ph-P}), 132.9 (d, 1C, ²J_{C-P} = 60.4 Hz, C_{Ar-P}), 133.6 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 134.3 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 134.4 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 134.6 (d, 4C, ²J_{C-P} = 13.8 Hz, CH_{Ph-P}), 134.6 (d, 2C, ²J_{C-P} = 13.8 Hz, CH_{Ar-P}), 137.9 (s, 1C, C_{Ar-P}), 138.7 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 139.2 (s, 1C, C_{BODIPY}), 139.9 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 145.9 (s, 1C, C_{Ar-BODIPY}), 154.6 (s, 2C, C_{Pyrrrole}), 166.6 (s, 1C, CON), 166.8 (s, 1C, CON), 172.9 (s, 1C, CON)

³¹P{¹H} NMR (202.5 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) 32.9

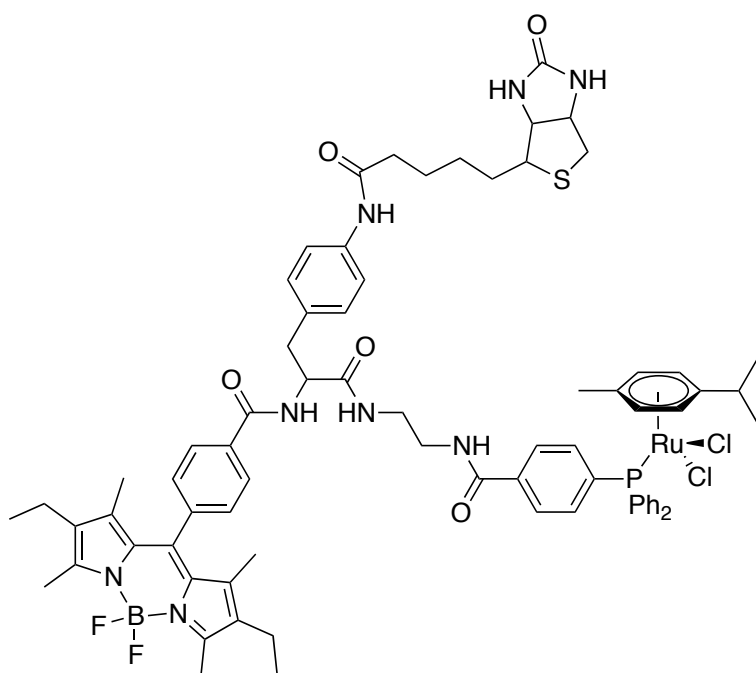
^{11}B NMR (160.5 MHz, CD_2Cl_2): δ (ppm) 0.74 (t, $^1J_{\text{B-F}} = 33.2$ Hz)

$^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$ NMR (470.6 MHz, CD_2Cl_2): δ (ppm) - 145.68 (dd, $^1J_{\text{B-F}} = 31.9$ Hz, $^2J_{\text{F-F}} = 66.0$ Hz)

HR-MS (ESI): m/z calcd for $\text{C}_{54}\text{H}_{56}\text{O}_3\text{N}_6\text{AuClF}_2\text{P} - \text{Cl}^-$: 1113.38817 Da $[\text{M-Cl}]^-$.
Found: 1113.39046 Da

Bioconjugaison of **80** to biotin

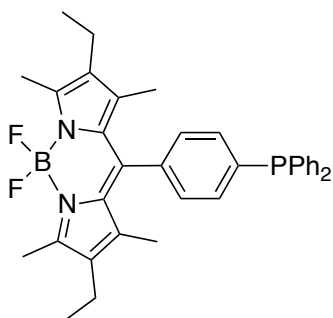
85



C₇₄H₈₄BCl₂F₂N₈O₅PRuS
Exact mass = 1448.450 g.mol⁻¹
Molar mass = 1449.332 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. Biotin-acid (50 mg, 0.21 mmol, 1.0 eq) and oxalyl chloride distilled (0.10 mL, 1.15 mmol, 5.5 eq) was dropwise. The resulting mixture was stirred at room temperature for 3 h. The solution was removed under reduced pressure. Toluene was added three times (3x2 mL) to help eliminate completely the oxalyl chloride. This product (19 mg, 0.072 mmol, 3.6 eq) was used directly for the next step. The ruthenium complex **80** (24 mg, 0.020 mmol, 1.0 eq) and anhydrous dimethylformamide (2 mL) were added. The mixture was stirred at room temperature for 24 h. The solvent was removed under reduced pressure.

HR-MS (ESI): m/z calcd for C₇₄H₈₄BCl₂F₂N₈O₅PRuS + H⁺: 1449.45991 Da [M+H]⁺.
 Found: 1449.50007 Da

4,4-Difluoro-8-(4-(diphenylphosphino)phenyl)-1,3,5,7-tetramethyl-2,6-diethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene **87**


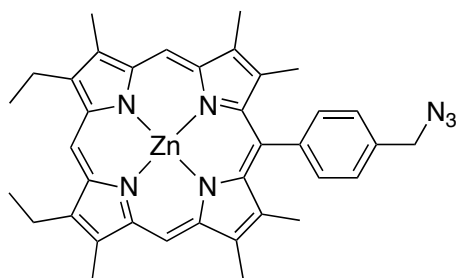
C₃₅H₃₆BF₂N₂P
Exact mass = 564.268 g.mol⁻¹
Molar mass = 564.455 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. BODIPY-iodide (60.0 mg, 0.119 mmol, 1.0 eq) was dissolved in diethyl ether distilled (7 mL). The resulting mixture was cooled to - 105 °C, butyllithium was added (1.47 M) (0.1 mL, 0.147 mmol, 1.2 eq) and stirred at - 105 °C for 5 min. Chlorodiphenylphosphine (30 µL, 0.167 mmol, 1.4 eq) was added. The mixture was stirred at - 105 °C for 15 min and at room temperature for 16 h. Completion of the reaction was monitored by ³¹P NMR (242.9 MHz, 300 K). The solvent was removed under reduced pressure. The residue was “purified” by alumina gel column chromatography under argon atmosphere (eluent degassed: dichloromethane/methanol (7:3) and then dichloromethane/methanol (9:1)).

³¹P{¹H} NMR (202.5 MHz, no solvent): δ (ppm) - 16.3

Zinc 8,12-diethyl-2,3,7,13,17,18-hexamethyl-20-*para*-(azidomethyl)phenyl porphyrin

89



C₃₇H₃₇N₇Zn
Exact mass = 643.240 g.mol⁻¹
Molar mass = 645.117 g.mol⁻¹

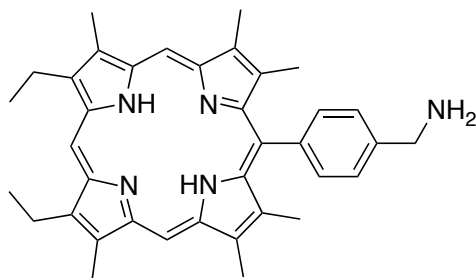
The reaction was carried out under a bubbling nitrogen. *a,c*-Biladiene **21** (502 mg, 0.84 mmol, 1.0 eq), *p*-(azidomethyl)benzaldehyde (135 mg, 0.84 mmol, 1.0 eq) were dissolved in ethanol (100 mL). The mixture was stirred and heated to reflux at the dark. *P*-toluenesulfonic acid (1.01 g, 5.86 mmol, 7.0 eq) was dissolved in ethanol (25 mL), and then added slowly with peristaltic pump to the solution. The mixture was stirred and heated to reflux for 48 h. Completion of the reaction was monitored by TLC (silica gel, eluent: dichloromethane). The solvent was removed under reduced pressure and the residue was diluted in dichloromethane (200 mL), washed three times with water (3x500 mL), dried over magnesium sulfate and the solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (eluent: dichloromethane/methanol (100:2)). The solvent was removed under reduced pressure and the residue was diluted in chloroform (100 mL). Zinc acetate (183 mg, 0.82 mmol) and sodium acetate (395 mg, 4.93 mmol) were dissolved in methanol (20 mL) and added at the solution. The mixture was heated to reflux for 2 h. The mixture was washed three times with water (3x250 mL), dried over magnesium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (eluent: dichloromethane) to afford the desired pure product **89** as a purple powder (285 mg, 52%).

¹H NMR (300.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 1.83 (t, 6H, ³*J* = 7.4 Hz, CH₂CH₃), 2.40 (s, 6H, CH₃), 3.48 (s, 6H, CH₃), 3.57 (s, 6H, CH₃), 4.00 (q, 4H, ³*J* = 7.4 Hz, CH₂CH₃), 4.67 (s, 2H, CH₂N₃), 7.66 (d, 2H, ³*J* = 8.0 Hz, H_{Ar}), 8.05 (d, 2H, ³*J* = 8.0 Hz, H_{Ar}), 9.89 (s, 1H, H_{meso}), 10.04 (s, 2H, H_{meso})

HR-MS (MALDI-TOF): *m/z* calcd for C₃₇H₃₇N₇Zn⁺: 643.240 Da [M]⁺. Found: 643.016 Da

UV-vis (CH₂Cl₂): λ_{max} (nm) (ε, 10³ M⁻¹ cm⁻¹) 404 (215), 534 (11), 570 (10)

8,12-Diethyl-2,3,7,13,17,18-hexamethyl-20-*para*-(aminomethyl)phenyl porphyrin **90**



Exact mass = 555.336 g.mol⁻¹

Molar mass = 555.755 g.mol⁻¹

Zinc porphyrin **89** (405 mg, 0.63 mmol, 1.0 eq), *p*-(azidomethyl)benzaldehyde (135 mg, 0.84 mmol, 1.0 eq) was dissolved in chloroform (100 mL). A solution of hydrochloric acid at 6M (12 mL) and the mixture was stirred vigorously for 2 h. The solution was washed five times with water (3x400 mL), dried over magnesium sulfate and the solvent was removed under reduced pressure. The reaction was carried out under a nitrogen atmosphere. The residue was dissolved in tetrahydrofuran distilled (200 mL) and at - 80 °C, it was added dropwise to the mixture of lithium aluminium hydride LiAlH₄ (24 mg, 0.63 mmol, 1.0 eq) dissolved in tetrahydrofuran distilled (50 mL). The mixture was stirred at room temperature for 4 h and neutralized by adding dropwise water at - 30 °C. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was diluted in dichloromethane (350 mL), washed three times with water (3x600 mL), dried over magnesium sulfate and the solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (eluent: dichloromethane/methanol (85:15) and then, ammoniac solution/ethanol (95:5) to afford the compound **90** (234 mg, 67%).

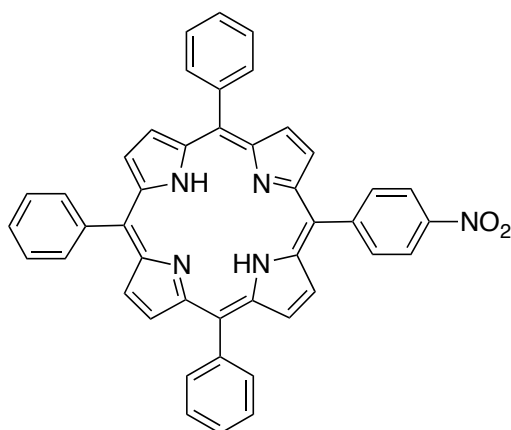
¹H NMR (300.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) - 3.20 (s, 2H, NH_{porph}), 1.85 (t, 6H, ³J = 7.4 Hz, CH₂CH₃), 2.43 (s, 6H, CH₃), 3.50 (s, 6H, CH₃), 3.61 (s, 6H, CH₃), 4.04 (q, 4H, ³J = 7.4 Hz, CH₂CH₃), 7.64 (d, 2H, ³J = 8.0 Hz, H_{Ar}), 7.98 (d, 2H, ³J = 8.0 Hz, H_{Ar}), 9.92 (s, 1H, H_{meso}), 10.14 (s, 2H, H_{meso})

HR-MS (MALDI-TOF): m/z calcd for C₃₇H₄₁N₅ + H⁺: 556.344 Da [M+H]⁺. Found: 556.163 Da

UV-vis (CH₂Cl₂): λ_{max} (nm) (ε, 10³ M⁻¹ cm⁻¹) 402 (121), 500 (10), 535 (5), 570 (5), 624 (2)

5-(4-Nitrophenyl)-10,15,20-triphenylporphyrin

94



C₄₄H₂₉N₅O₂
Exact mass = 659.232 g.mol⁻¹
Molar mass = 659.733 g.mol⁻¹

Meso-tetraphenylporphyrin (4.053 g, 6.59 mmol, 1.0 eq) was dissolved in trifluoroacetic acid (60 mL). Sodium nitrite (819 mg, 11.88 mmol, 1.8 eq) was added. The mixture was stirred exactly 3 min. The resulting solution was transferred to an erlenmeyer containing 150 mL of water distilled and 150 mL of chloroform. The trifluoroacetic acid was neutralized with saturated aqueous NaHCO₃. The mixture was washed three times with water (3x300mL), dried over magnesium sulfate and solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (eluent: dichloromethane/heptane (6/4)) to afford the desired pure product **94** as a purple powder (3.278 g, 75%).

¹H NMR (500.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) - 2.74 (br s, 2H, NH_{porph}), 7.76 (m, 9H, H_{Ar}), 8.22 (m, 6H, H_{Ar}), 8.40 (d, 2H, ³J = 8.7 Hz, C₆H₄NO₂), 8.63 (d, 2H, ³J = 8.7 Hz, C₆H₄NO₂), 8.75 (d, 2H, ³J = 4.8 Hz, H_β), 8.88 (s, 4H, H_β), 8.91 (d, 2H, ³J = 4.8 Hz, H_β)

¹³C{¹H} NMR (75.5 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 149.4, 147.9, 142.0, 135.3, 134.7, 128.0, 127.9, 126.9, 122.0, 121.3, 120.8, 116.8

HR-MS (MALDI-TOF): m/z calcd for C₄₄H₂₉N₅O₂⁺: 659.2316 [M]⁺. Found: 659.2307

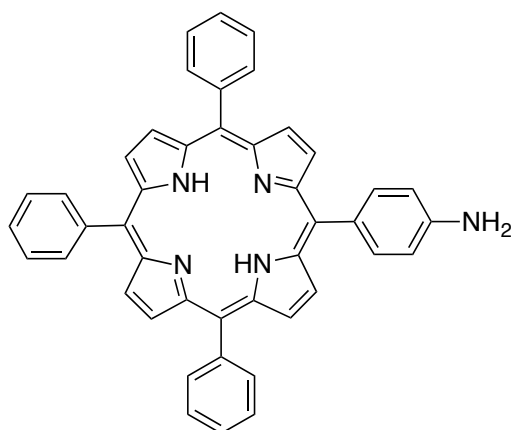
HR-MS (ESI): m/z calcd for C₄₄H₂₉N₅O₂ + Na⁺: 682.22135 Da [M+Na]⁺. Found: 682.21844 Da

UV-vis (THF): λ_{max} (nm) (ε, 10³ M⁻¹ cm⁻¹) 417 (445), 513 (17), 548 (5), 591 (1), 647 (0.4)

IR: ν̄ (cm⁻¹): 1345 (ν_{N-O}), 1514 (ν_{N-O}), 3313 (ν_{N-H})

5-(4-Aminophenyl)-10,15,20-triphenylporphyrin

95



C₄₄H₃₁N₅
Exact mass = 629.258 g.mol⁻¹
Molar mass = 629.750 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. [TPP(*p*-NO₂)] **94** (316 mg, 0.48 mmol, 1.0 eq), 2-mercaptoethanol (0.34 mL, 4.79 mmol, 10.0 eq), lithium hydroxide (81 mg, 3.38 mmol, 7.0 eq) were dissolved in anhydrous dimethylformamide (20 mL). The mixture was stirred at 120 °C for 48 h. Completion of the reaction was monitored by TLC (silica gel, eluent: dichloromethane) and by MALDI-TOF spectrometer. The solution was diluted in chloroform (100 mL), washed three times with water (3x150 mL), dried over anhydrous calcium chloride. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (eluent: dichloromethane) to afford [TPP(*p*-NH₂)] **95** (278 mg, 92%).

¹H NMR (500.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) - .74 (br s, 2H, NH_{porph}), 7.07 (d, 2H, ³*J* = 8.7 Hz, C₆H₄-NH₂), 7.76 (m, 9H, H_{Ar}), 8.00 (d, 2H, ³*J* = 8.7 Hz, C₆H₄-NH₂), 8.22 (m, 6H, H_{Ar}), 8.83 (m, 6H, H_β), 8.94 (d, 2H, ³*J* = 4.8 Hz, H_β)

¹³C{¹H} NMR (75.5 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 146.1, 142.5, 135.8, 134.7, 132.5, 127.8, 126.8, 121.0, 120.7, 120.2, 119.9, 113.6

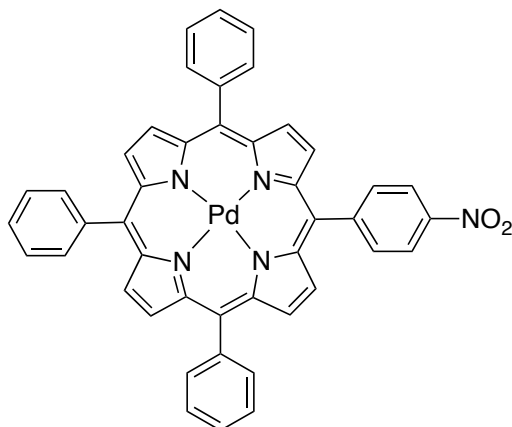
HR-MS (MALDI-TOF): *m/z* calcd for C₄₄H₃₁N₅⁺: 629.2574 Da [M]⁺. Found: 629.2620 Da

UV-vis (THF): λ_{max} (nm) (ε, 10³ M⁻¹ cm⁻¹) 418 (400), 516 (17), 554 (9), 594 (2), 652 (1)

IR: ν̄ (cm⁻¹): 1176 (ν_{C-N}), 1595 (δ_{NH2}), 3313 (ν_{N-H})

Palladium 5-(4-nitrophenyl)-10,15,20-triphenylporphyrin

96



C₄₄H₂₇N₅O₂Pd
Exact mass = 763.120 g.mol⁻¹
Molar mass = 764.137 g.mol⁻¹

[TPP(*p*-NO₂)] **94** (300 mg, 0.46 mmol, 1.0 eq) and palladium dichloride (59% Pd) (274 mg, 0.91 mmol, 2.0 eq) were dissolved in dimethylformamide (30 mL). The mixture was stirred for 16 h at reflux. The solvent was removed under reduced pressure. The solid was dissolved in dichloromethane (100 mL), washed three times with distilled water (3x150 mL), dried over magnesium sulfate and solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (eluent: dichloromethane/hexane (1/1)) to afford compound **96** as a red-orange powder (347 mg, > 99%).

¹H NMR (300.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 7.75 (m, 9H, H_{Ar}), 8.17 (m, 6H, H_{Ar}), 8.31 (d, 2H, ³*J* = 8.6 Hz, C₆H₄-NO₂), 8.57 (d, 2H, ³*J* = 8.6 Hz, C₆H₄-NO₂), 8.69 (d, 2H, ³*J* = 5.0 Hz, H_β), 8.85 (m, 6H, H_β)

¹³C{¹H} NMR (75.5 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 148.9, 147.9, 142.1, 142.0, 141.8, 141.6, 140.7, 134.2, 132.0, 131.9, 131.6, 131.4, 131.3, 130.1, 129.7, 129.4, 128.0, 127.9, 126.9, 124.1, 122.7, 122.4, 122.0, 118.6

HR-MS (MALDI-TOF): *m/z* calcd for C₄₄H₂₇N₅O₂Pd⁺: 763.1210 Da [M]⁺. Found: 763.1210 Da

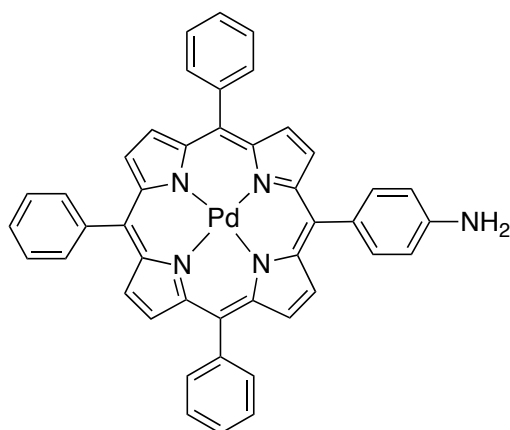
HR-MS (ESI): *m/z* calcd for C₄₄H₂₇N₅O₂Pd + Na⁺: 786.11074 Da [M+Na]⁺. Found: 786.10809 Da

UV-vis (THF): λ_{max} (nm) (ε, 10³ M⁻¹ cm⁻¹) 415 (331), 523 (27), 553 (3)

IR: ν̄ (cm⁻¹) 1347 (ν_{N-O}), 1519 (ν_{N-O})

Palladium 5-(4-aminophenyl)-10,15,20-triphenylporphyrin

97



C₄₄H₂₉N₅Pd
Exact mass = 733.146 g.mol⁻¹
Molar mass = 734.155 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. [TPP(*p*-NO₂)-Pd] **96** (283 mg, 0.37 mmol, 1.0 eq), 2-mercaptoethanol (0.26 mL, 3.66 mmol, 9.9 eq), lithium hydroxide (62 mg, 2.59 mmol, 7.0 eq) were dissolved in anhydrous dimethylformamide (20 mL). The mixture was stirred at 120 °C for 48 h. Completion of the reaction was monitored by TLC (silica gel, eluent: dichloromethane/hexane (1/1)). The solution was diluted in chloroform (100 mL), washed three times with water (3x150 mL), dried over magnesium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography (eluent: dichloromethane/hexane (1/1)) to afford [TPP(*p*-NH₂)-Pd] **97** (233 mg, 86%).

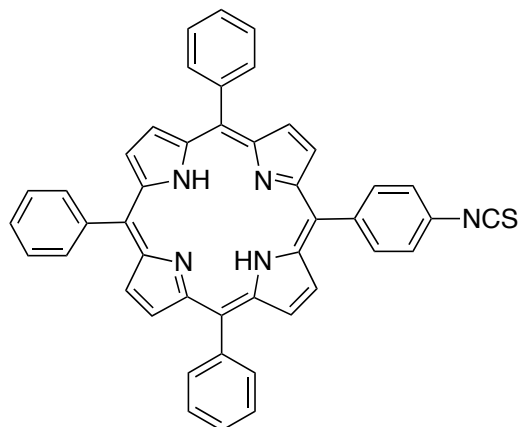
¹H NMR (300.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 7.16 (d, 2H, ³*J* = 8.7 Hz, C₆H₄-NH₂), 7.74 (m, 9H, H_{Ar}), 7.99 (d, 2H, ³*J* = 8.4 Hz, C₆H₄-NH₂), 8.17 (m, 6H, H_{Ar}), 8.81 (m, 6H, H_β), 8.91 (d, 2H, ³*J* = 5.0 Hz, H_β)

¹³C{¹H} NMR (75.5 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 146.1, 142.3, 142.0, 141.8, 141.6, 135.3, 134.3, 132.1, 131.4, 131.1, 131.0, 130.9, 127.9, 126.8, 122.5, 121.7, 121.6, 113.6

HR-MS (ESI): *m/z* calcd for C₄₄H₂₉N₅Pd + Na⁺: 756.13656 Da [M+Na]⁺. Found: 756.13922 Da

5-(4-Isothiocyanatophenyl)-10,15,20-triphenylporphyrin

99



C₄₅H₂₉N₅S
Exact mass = 671.214 g.mol⁻¹
Molar mass = 671.810 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. [TPP(*p*-NH₂)] **95** (468 mg, 0.74 mmol, 1.0 eq) was dissolved in dichloromethane distilled (20 mL). Triethylamine distilled (1.75 mL, 12.56 mmol, 16.9 eq) was added. The mixture was stirred for 10 min at 0 °C and under vigorous stirring, thiophosgene (0.17 mL, 2.22 mmol, 3.0 eq) was added dropwise. The resulting solution was stirred for 15 min at 0 °C and then 4 h at room temperature. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by filtration over a silica plug (eluent: dichloromethane) to afford [TPP(*p*-NCS)] **99** (351 mg, 70%).

¹H NMR (300.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) - 2.77 (br s, 2H, NH_{Porph}), 7.63 (d, 2H, ³*J* = 8.3 Hz, C₆H₄-NCS), 7.78 (m, 9H, H_{Ar}), 8.22 (m, 8H, H_{Ar}), 8.79 (d, 2H, ³*J* = 4.8 Hz, H_β), 8.87 (m, 6H, H_β)

¹³C{¹H} NMR (75.5 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 142.1, 141.6, 135.6, 134.7, 127.9, 126.9, 124.2, 122.1, 120.6, 116.9, 29.9

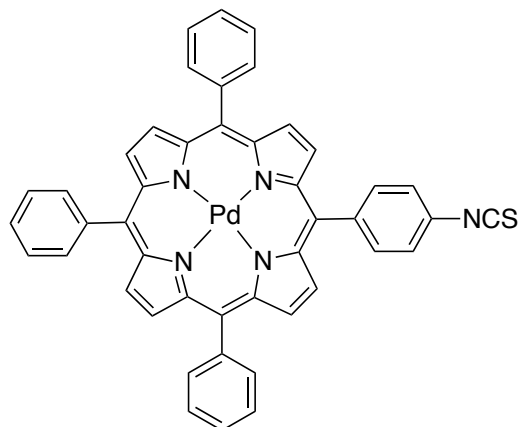
HR-MS (MALDI-TOF): *m/z* calcd for C₄₅H₂₉N₅S + H⁺: 672.22164 Da [M+H]⁺. Found: 672.22023 Da

UV-vis (THF): λ_{max} (nm) (ε, 10³ M⁻¹ cm⁻¹) 417 (536), 513 (17), 548 (5), 592 (1), 647 (1)

IR: ν̄ (cm⁻¹) 1995-2115 (ν_{NCS} (large)), 3317 (ν_{N-H})

Palladium 5-(4-isothiocyanatophenyl)-10,15,20-triphenylporphyrin

100

Exact mass = 775.102 g.mol⁻¹Molar mass = 776.214 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. Thiophosgene (0.12 mL, 1.57 mmol, 3.4 eq) was dissolved in dichloromethane distilled (4 mL). [TPP(*p*-NH₂)-Pd] **97** (343 mg, 0.47 mmol, 3.4 eq), dissolved in dichloromethane distilled (20 mL), was added dropwise at 0 °C. Triethylamine distilled (1.11 mL, 7.96 mmol, 17.1 eq) was added. The resulting solution was stirred for 10 min at 0 °C and then 3 h at room temperature. The solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified by filtration over a silica plug (eluent: dichloromethane) to afford [TPP(*p*-NCS)-Pd] **100** (338 mg, 93%).

¹H NMR (300.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 7.59 (d, 2H, ³*J* = 8.7 Hz, C₆H₄-NCS), 7.74 (m, 9H, H_{Ar}), 8.15 (m, 8H, H_{Ar}), 8.75 (d, 2H, ³*J* = 5.0 Hz, H_β), 8.84 (m, 6H, H_β)

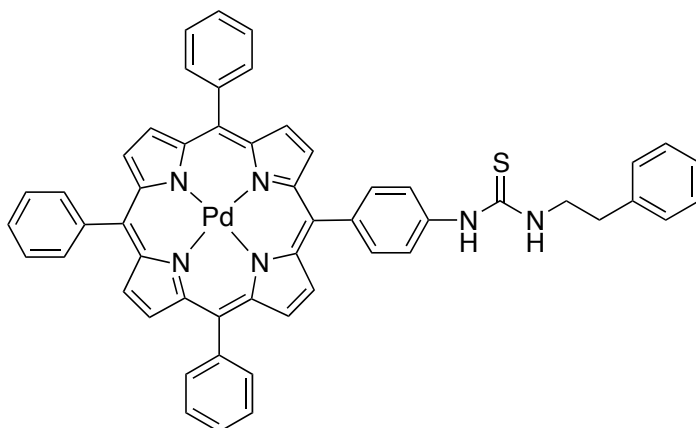
¹³C{¹H} NMR (75.5 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 141.9, 141.8, 141.3, 141.2, 135.2, 134.3, 131.5, 131.4, 131.3, 130.6, 128.0, 126.9, 124.2, 122.3, 122.1, 120.0, 29.9

HR-MS (MALDI-TOF): *m/z* calcd for C₄₅H₂₇N₅PdS⁺: 775.1032 Da [M]⁺. Found: 775.1032 Da

UV-vis (THF): λ_{max} (nm) (ε, 10³ M⁻¹ cm⁻¹) 416 (268), 523 (18), 554 (4)

IR: ν̄ (cm⁻¹) 2338-2361 (ν_{NCS} (large))

Palladium 5-(4-(*N*-(2-phenylethyl)thiocarbamido)aminophenyl)-10,15,20-tri phenylporphyrin

104

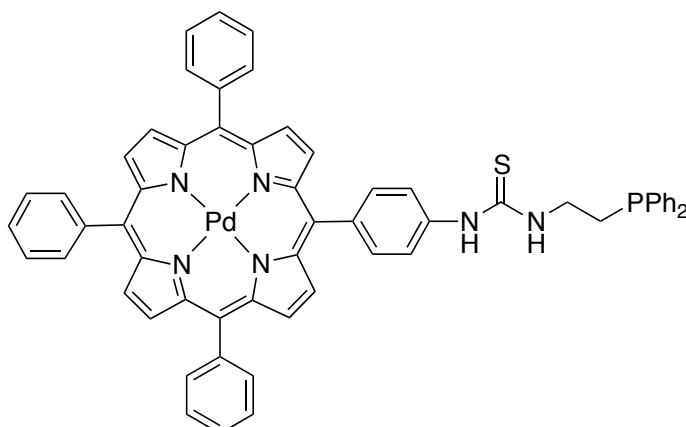
C₅₃H₃₇N₆PdS
Exact mass = 896.191 g.mol⁻¹
Molar mass = 897.394 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. 2-Phenylethylamine (7.8 mg, 0.064 mmol, 1.0 eq) and [TPP(*p*-NCS)-Pd] **100** (49.7 mg, 0.064 mmol, 1.0 eq) were dissolved in dichloromethane distilled (2 mL). The mixture was stirred for 1h30 at room temperature. The solvent was removed under reduced pressure to afford the compound **104** as an orange powder (57 mg, > 99%).

¹H NMR (500.13 MHz, DMSO-*d*₆) : δ (ppm) 3.01 (br t, 2H, ³*J* = 7.2 Hz, CH₂C₆H₄), 3.86 (m, 2H, NHCH₂), 7.24 (m, 1H, *o*-C₆H₄CH₂), 7.36 (m, 4H, *o*- and *p*-C₆H₄CH₂), 7.83 (m, 12H, NH + C₆H₄NH + H_{Ar}), 8.09 (d, 2H, ³*J* = 8.4 Hz, C₆H₄NH), 8.14 (m, 1H, NH), 8.18 (m, 6H, H_{Ar}), 8.79 (s, 6H, H_β), 8.81 (d, 2H, ³*J* = 4.9 Hz, H_β), 8.89 (d, 2H, ³*J* = 4.9 Hz, H_β)

MS (ESI): *m/z* calcd for C₅₃H₃₇N₆PdS - H⁺: 895.18 Da [M-H]⁺. Found: 895.22 Da

Palladium 5-(4-(*N*-(2-(diphenylphosphino)ethyl)thiocarbamido)aminophenyl)-10,15,20-triphenylporphyrin **106**



C₅₉H₄₃N₆PPdS
Exact mass = 1004.204 g.mol⁻¹
Molar mass = 1005.472 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. 2-(Diphenylphosphino)ethylamine (167 mg, 0.73 mmol, 1.3 eq) and [TPP(*p*-NCS)-Pd] **100** (430 mg, 0.55 mmol, 1.0 eq) were dissolved in dichloromethane distilled (11 mL). The mixture was stirred for 4 h at room temperature. The solvent was removed under reduced pressure. Diethyl ether distilled (10 mL) was added and the precipitate was filtered by cannula. The solid was washed three times with diethyl ether distilled to afford the porphyrin derivative **106** as a red-orange powder (551 mg, > 99%).

¹H NMR (500.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 2.56 (m, 2H, NH-CH₂), 3.73 (m, 2H, CH₂-PPh₂), 7.36-7.43 (m, 6H, *o*- and *p*-PPh₂), 7.52 (t, 4H, ³*J* = 7.2 Hz, *m*-PPh₂), 7.79-7.90 (m, 12H, NH + H_{Ar} + C₆H₄-NH), 8.11 (d, 2H, ³*J* = 8.2 Hz, C₆H₄-NH), 8.18 (d, 6H, ³*J* = 6.7 Hz, H_{Ar}), 8.80 (m, 6H, H_β), 8.89 (d, 2H, ³*J* = 4.8 Hz, H_β)

¹³C{¹H} NMR (125.8 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 180.8, 141.8, 141.7, 141.4, 140.9, 137.4, 136.0, 135.8, 134.2, 1332.9, 132.8, 131.4, 131.3, 131.2, 130.7, 129.1, 129.0, 128.8, 128.6, 128.0, 127.9, 126.9, 123.2, 122.2, 122.1, 120.2, 42.8, 28.2

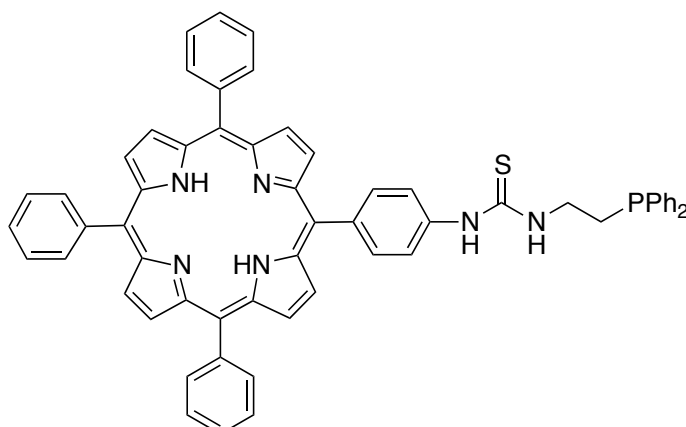
³¹P{¹H} NMR (202.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) - 21.7

HR-MS (MALDI-TOF): *m/z* calcd for C₅₉H₄₃N₆PPdS⁺: 1004.2030 Da [M]⁺. Found: 1004.20 Da

HR-MS (ESI): *m/z* calcd for C₅₉H₄₃N₆PPdS + Na⁺: 1027.19536 Da [M+Na]⁺. Found: 1027.19433 Da

UV-vis (THF): λ_{max} (nm) (ε, 10³ M⁻¹ cm⁻¹) 416 (303), 523 (28), 554 (2)

IR: ν̄ (cm⁻¹) 799 (ν_{C=S}), 1352 (ν_{C-N}), 1530 (ν_{N-C-N}), 3137 (ν_{N-H})

5-(4-(N-(2-(diphenylphosphino)ethyl)thiocarbamido)aminophenyl)-10,15,20-triphenylporphyrin
107

C₅₉H₄₅N₆PS
Exact mass = 900.316 g.mol⁻¹
Molar mass = 901.068 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under glove box. 2-(Diphenylphosphino)ethylamine (103 mg, 0.45 mmol, 1.0 eq) and [TPP(*p*-NCS)] **99** (300 mg, 0.45 mmol, 1.0 eq) were dissolved in dichloromethane distilled (30 mL). The mixture was stirred for 4 h at room temperature. The solvent was removed under reduced pressure. The porphyrin derivative **107** was isolated as a purple powder (448 mg, > 99%).

¹H NMR (500.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) - 2.87 (br s, 2H, NH_{porph}), 2.58 (m, 2H, NH-CH₂), 3.75 (m, 2H, CH₂-PPh₂), 7.34-7.42 (m, 6H, *o*- and *p*-PPh₂), 7.52 (t, 4H, ³*J* = 7.2 Hz, *m*-PPh₂), 7.56 (m, 1H, NH), 7.78-7.85 (m, 9H, H_{Ar}), 7.87 (d, 2H, ³*J* = 8.4 Hz, C₆H₄-NH), 8.16 (d, 2H, ³*J* = 8.4 Hz, C₆H₄ NH), 8.21 (m, 6H, H_{Ar}), 8.29 (m, 1H, NH), 8.83 (m, 6H, H_β), 8.93 (d, 2H, ³*J* = 4.5 Hz, H_β)

¹³C{¹H} NMR (125.8 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 180.1, 141.2, 139.0, 137.9, 136.6, 134.6, 134.2, 132.4, 131.3, 128.7, 128.6, 128.0, 126.9, 121.0, 120.0, 119.9, 41.4, 26.9

³¹P{¹H} NMR (121.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) - 21.6

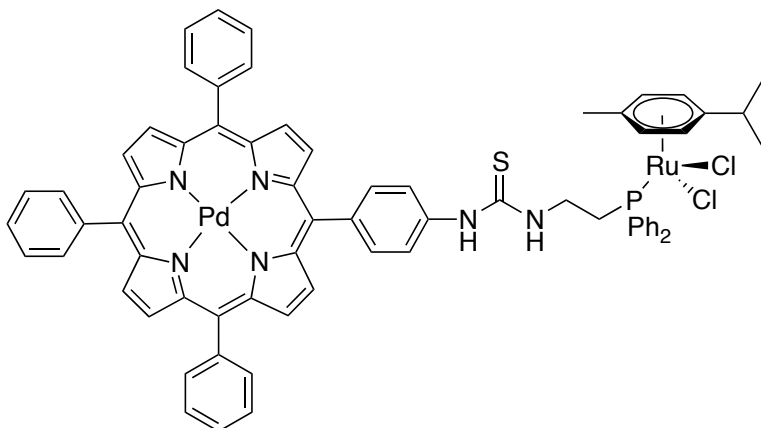
HR-MS (MALDI-TOF): *m/z* calcd for C₅₉H₄₅N₆PS⁺: 900.3159 Da [M]⁺. Found: 900.3334 Da

HR-MS (ESI): *m/z* calcd for C₅₉H₄₅N₆PS + H⁺: 901.32368 Da [M+H]⁺. Found: 901.32380 Da

UV-vis (THF): λ_{max} (nm) (ε, 10³ M⁻¹ cm⁻¹) 418 (414), 514 (19), 549 (9), 592 (5), 648 (4)

IR: ν̄ (cm⁻¹) 801 (ν_{C=S}), 1348 (ν_{C-N}), 1526 (ν_{C-N}), 1526 (ν_{N-C-N}), 3317 (ν_{N-H})

[(η^6 -*p*-Cymene)(Palladium 5-(4-(*N*-(2-(diphenylphosphino)ethyl)thiocarbamido)aminophenyl)-10,15,20-triphenylporphyrin)-RuCl₂] **108**



C₆₉H₅₇Cl₂N₆PPdRuS
Exact mass = 1310.156 g.mol⁻¹
Molar mass = 1311.666 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. Porphyrin phosphine derivative **106** (97 mg, 0.10 mmol, 1.0 eq) and [RuCl₂(η^6 -*p*-cymene)]₂ **61** (30 mg, 0.05 mmol, 0.5 eq) were dissolved in dichloromethane distilled (3.5 mL). The resulting mixture was stirred for 3 h at room temperature. Completion of the reaction was monitored by ³¹P NMR (202.5 MHz, 300 K). The solvent was removed under reduced pressure. The ruthenium complex **108** was isolated as a bright red powder (125 mg, 99%).

¹H NMR (500.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 0.74 (d, 6H, ³*J* = 6.9 Hz, CH(CH₃)₂), 1.77 (s, 3H, CH₃), 2.31 (hept, 1H, ³*J* = 6.9 Hz, CH(CH₃)₂), 2.90 (m, 2H, NH-CH₂), 3.40 (m, 2H, CH₂-Ph), 5.22 (d, 2H, ³*J* = 6.2 Hz, *p*-cymene-Ru), 5.40 (d, 2H, ³*J* = 6.2 Hz, *p*-cymene-Ru), 7.51-7.59 (m, 6H, *o*- and *p*-PPh₂), 7.64-7.93 (m, 16H, *m*-PPh₂ + NH + C₆H₄NH + H_{Ar}), 8.04 (d, 2H, ³*J* = 8.4 Hz, C₆H₄NH), 8.10-8.17 (m, 7H, NH + H_{Ar}), 8.77-8.87 (m, 8H, H_β)

¹³C{¹H} NMR (125.8 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 180.0, 140.9, 140.8, 140.7, 140.6, 139.0, 136.0, 134.1, 133.7, 133.1, 132.5, 132.2, 131.4, 131.3, 131.1, 131.0, 130.4, 130.3, 128.8, 128.5, 128.1, 128.0, 127.0, 121.8, 121.6, 121.5, 121.0, 106.3, 93.9, 89.8, 86.3, 85.5, 54.8, 29.4, 21.4, 20.9, 16.9

³¹P{¹H} NMR (202.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 19.9

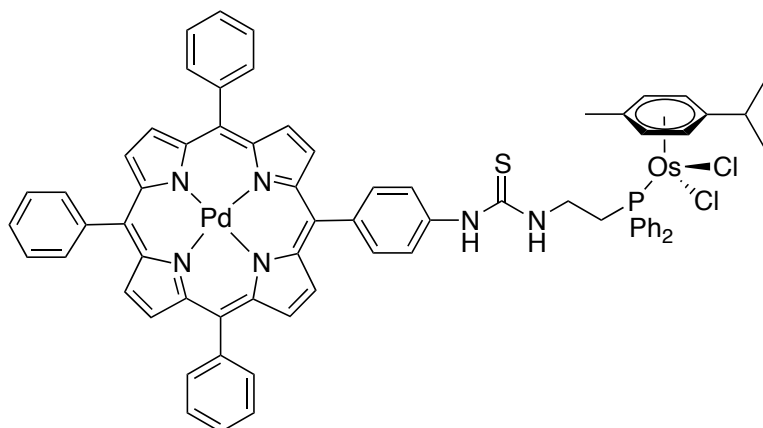
HR-MS (MALDI-TOF): *m/z* calcd for C₆₉H₅₇Cl₂N₆PPdRuS - 2Cl⁺: 1240.2136 Da [M-2Cl]⁺. Found: 1240.2148 Da

HR-MS (ESI): *m/z* calcd for C₆₉H₅₇Cl₂N₆PPdRuS - HCl - Cl⁺: 1239.21284 Da [M-HCl-Cl]⁺. Found: 1239.21031 Da

UV-vis (THF): λ_{max} (nm) (ϵ , 10³ M⁻¹ cm⁻¹) 416 (249), 523 (26), 554 (3)

IR: $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) 293 ($\nu_{\text{Ru-Cl}}$), 796 ($\nu_{\text{C=S}}$), 1352 ($\nu_{\text{C-N}}$), 1508 ($\nu_{\text{N-C-N}}$), 3049 ($\nu_{\text{N-H}}$)

[(η^6 -*p*-Cymene)(Palladium 5-(4-(*N*-(2-(diphenylphosphino)ethyl)thiocarbamido)aminophenyl)-10,15,20-triphenylporphyrin)-OsCl₂] **109**



C₆₉H₅₇Cl₂N₆OsPPdS
Exact mass = 1400.213 g.mol⁻¹
Molar mass = 1400.826 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. Porphyrin phosphine derivative **106** (99 mg, 0.10 mmol, 1.0 eq) and [OsCl₂(η^6 -*p*-cymene)]₂ **63** (39 mg, 0.05 mmol, 0.5 eq) were dissolved in dichloromethane distilled (3 mL). The resulting mixture was stirred for 3 h at room temperature. Completion of the reaction was monitored by ³¹P NMR (202.5 MHz, 300 K). The solvent was removed under reduced pressure. The osmium complex **109** was isolated as a bright red powder (136 mg, 98%).

¹H NMR (500.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 0.79 (d, 6H, ³*J* = 6.9 Hz, CH(CH₃)₂), 1.89 (s, 3H, CH₃), 2.17 (hept, 1H, ³*J* = 6.9 Hz, CH(CH₃)₂), 3.02 (m, 2H, NH-CH₂), 3.44 (m, 2H, CH₂-PPh₂), 5.44 (d, 2H, ³*J* = 5.9 Hz, *p*-cymene-Os), 5.56 (d, 2H, ³*J* = 5.9 Hz, *p*-cymene-Os), 7.46-7.58 (m, 6H, *o*- and *p*-PPh₂), 7.63-7.89 (m, 16H, *m*-PPh₂ + NH + C₆H₄NH + H_{Ar}), 8.05 (d, 2H, ³*J* = 8.4 Hz, C₆H₄NH), 8.14-8.17 (m, 7H, NH + H_{Ar}), 8.77-8.87 (m, 8H, H _{β})

¹³C{¹H} NMR (125.8 MHz, CDCl₃): δ (ppm) 180.1, 141.0, 140.9, 140.8, 140.6, 136.0, 134.1, 133.7, 133.1, 132.0, 131.5, 131.3, 131.0, 130.4, 130.4, 130.3, 128.8, 128.4, 128.1, 128.0, 127.0, 121.8, 127.7, 121.6, 120.9, 97.3, 86.5, 81.5, 78.1, 54.9, 29.2, 21.3, 16.8, 16.3

³¹P{¹H} NMR (202.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) - 21.1

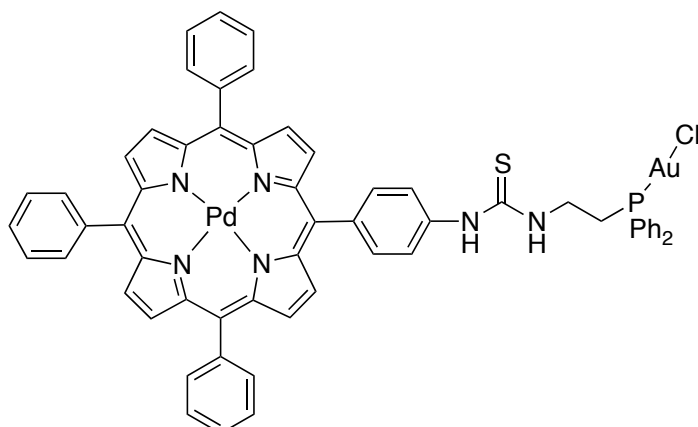
HR-MS (MALDI-TOF): *m/z* calcd for C₆₉H₅₇Cl₂N₆OsPPdS - HCl - Cl⁺: 1329.2677 Da [M-HCl-Cl]⁺. Found: 1329.2627 Da

HR-MS (ESI): *m/z* calcd for C₆₉H₅₇Cl₂N₆OsPPdS - HCl - Cl⁺: 1329.26768 Da [M-HCl-Cl]⁺. Found: 1329.26037 Da

UV-vis (THF): λ_{max} (nm) (ϵ , 10³ M⁻¹ cm⁻¹) 416 (249), 524 (26), 554 (3)

IR: $\bar{\nu}$ (cm⁻¹) 297 ($\nu_{\text{Os-Cl}}$), 795 ($\nu_{\text{C=S}}$), 1352 ($\nu_{\text{C-N}}$), 1508 ($\nu_{\text{N-C-N}}$), 3049 ($\nu_{\text{N-H}}$)

[(Palladium 5-(4-(*N*-(2-(diphenylphosphino)ethyl)thiocarbamido)aminophenyl)-10,15,20-triphenylporphyrin)-AuCl] **110**



C₆₉H₄₃AuClN₆PPdS
Exact mass = 1236.140 g.mol⁻¹
Molar mass = 1237.891 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. Porphyrin phosphine derivative **106** (101 mg, 0.10 mmol, 1.0 eq) and [Au(tht)Cl] **66** (32 mg, 0.10 mmol, 1.0 eq) were dissolved in dichloromethane distilled (3 mL). The resulting mixture was stirred for 3 h at room temperature. Completion of the reaction was monitored by ³¹P NMR (202.5 MHz, 300 K). The solvent was removed under reduced pressure. The gold complex **110** was isolated as a bright red powder (125 mg, > 99%).

¹H NMR (500.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 3.25 (m, 2H, NH-CH₂), 3.96 (m, 2H, CH₂-PPh₂), 7.59-7.64 (m, 6H, *o*- and *p*-PPh₂), 7.77-7.89 (m, 16H, *m*-PPh₂ + NH + C₆H₄NH + H_{Ar}), 8.12 (d, 2H, ³*J* = 8.1 Hz, C₆H₄NH), 8.16 (d, 6H, ³*J* = 6.9 Hz, H_{Ar}), 8.36 (br s, 1H, NH), 8.80 (m, 6H, H_β), 8.88 (d, 2H, ³*J* = 4.9 Hz, H_β)

¹³C{¹H} NMR (125.8 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 140.9, 140.8, 140.7, 134.2, 133.7, 133.1, 132.0, 131.3, 131.2, 131.1, 129.4, 129.0, 128.1, 127.0, 121.7, 121.4, 53.6, 31.0, 30.6

³¹P{¹H} NMR (202.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 24.9

HR-MS (MALDI-TOF): *m/z* calcd for C₆₉H₄₃AuClN₆PPdS⁺: 1236.1407 Da [M]⁺.
 Found: 1236.1370 Da

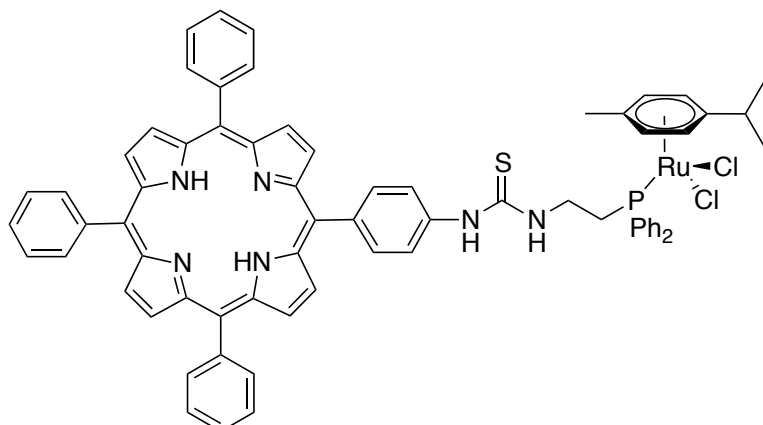
HR-MS (ESI): *m/z* calcd for C₅₉H₄₃AuNPPdS - Cl⁺: 1201.17214 Da [M-Cl]⁺.
 Found: 1201.17254 Da

UV-vis (THF): λ_{max} (nm) (ε, 10³ M⁻¹ cm⁻¹) 416 (276), 523 (26), 553 (2)

IR: ν̄ (cm⁻¹) 795 (ν_{C=S}), 1352 (ν_{C-N}), 1508 (ν_{N-C-N}), 3049 (ν_{N-H})

[(5-(4-(N-(2-(diphenylphosphino)ethyl)thiocarbamido)aminophenyl)-10,15,20-triphenylporphyrin)-RuCl₂]

111



C₆₉H₅₉Cl₂N₆PRuS
Exact mass = 1206.268 g.mol⁻¹
Molar mass = 1207.262 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under glove box. Porphyrin phosphine derivative **107** (90 mg, 0.10 mmol, 1.0 eq) and [RuCl₂(η⁶-*p*-cymene)]₂ (31 mg, 0.05 mmol, 0.5 eq) were dissolved in dichloromethane distilled (5 mL). The resulting mixture was stirred for 16 h at room temperature. Completion of the reaction was monitored by ³¹P NMR (202.5 MHz, 300 K). The solvent was removed under reduced pressure. The ruthenium complex **111** was isolated as a bright purple powder (121 mg, > 99%).

¹H NMR (300.13 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) - 2.88 (br s, 2H, NH_{porph}), 0.76 (d, 6H, ³*J* = 6.9 Hz, CH(CH₃)₂), 1.79 (s, 3H, CH₃), 2.26-2.37 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 2.87-3.04 (m, 2H, NH-CH₂), 3.33-3.55 (m, 2H, CH₂-PPh₂), 5.26 (d, 2H, ³*J* = 6.2 Hz, *p*-cymene-Ru), 5.44 (d, 2H, ³*J* = 6.2 Hz, *p*-cymene-Ru), 7.52-8.07 (m, 23H, PPh₂ + 2NH + C₆H₄ + H_{Ar}), 8.09-8.24 (m, 8H, C₆H₄NH + H_{Ar}), 8.81-8.92 (m, 8H, H_β)

¹³C{¹H} NMR (75.5 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 141.2, 134.9, 134.5, 134.2, 133.2, 132.0, 131.4, 131.2, 130.8, 130.4, 128.7, 128.5, 128.1, 126.9, 126.0, 123.7, 121.0, 120.0, 89.6, 86.0, 85.3, 54.9, 21.0, 17.0, 16.7

³¹P{¹H} NMR (121.5 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 19.9 ppm

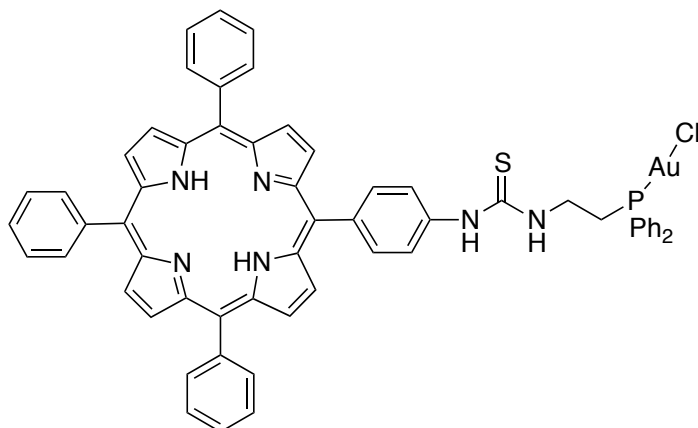
HR-MS (MALDI-TOF): m/z calcd for C₆₉H₅₉Cl₂N₆PRuS - HCl - Cl⁺: 1135.3237 Da [M-HCl-Cl]⁺. Found: 1135.3237 Da

HR-MS (ESI): m/z calcd for C₆₉H₅₉Cl₂N₆PRuS - HCl - Cl⁺: 1135.3237 Da [M-HCl-Cl]⁺. Found: 1135.32548 Da

UV-vis (THF): λ_{max} (nm) (ε, 10³ M⁻¹ cm⁻¹) 418 (318), 515 (19), 550 (10), 592 (6), 649 (4)

IR: ν̄ (cm⁻¹) 289 (ν_{Ru-Cl}), 798 (ν_{C=S}), 1349 (ν_{C-N}), 1537 (ν_{N-C-N}), 3310 (ν_{N-H})

[(5-(4-(N-(2-(diphenylphosphino)ethyl)thiocarbamido)aminophenyl)-10,15,20-triphenylporphyrin)-AuCl]

112

C₅₉H₄₅AuClN₆PS
Exact mass = 1132.252 g.mol⁻¹
Molar mass = 1133.487 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under glove box. Porphyrin phosphine derivative **107** (100 mg, 0.11 mmol, 1.0 eq) and [Au(tht)Cl] **66** (36 mg, 0.11 mmol, 1.0 eq) were dissolved in dichloromethane distilled (6 mL). The resulting mixture was stirred for 16 h at room temperature. Completion of the reaction was monitored by ³¹P NMR (202.5 MHz, 300 K). The solvent was removed under reduced pressure. The gold complex **112** was isolated as a bright purple powder (126 mg, > 99%).

¹H NMR (300.13 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) - 2.89 (br s, 2H, NH_{Porph}), 3.26 (m, 2H, NH-CH₂), 3.97 (m, 2H, CH₂-PPh₂), 7.58-7.62 (m, 6H, o- and p-PPh₂), 7.78-7.91 (m, 16H, m-PPh₂ + NH + H_{Ar} + C₆H₄NH), 8.38 (br s, 1H, NH), 8.83 (m, 6H, H_β), 8.92 (d, 2H, ³J = 4.8 Hz)

¹³C{¹H} NMR (75.5 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 141.1, 134.7, 134.2, 133.1, 132.1, 131.4, 129.6, 129.4, 128.1, 126.9, 120.0, 54.8, 31.0, 30.6

³¹P{¹H} NMR (121.5 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) 25.0

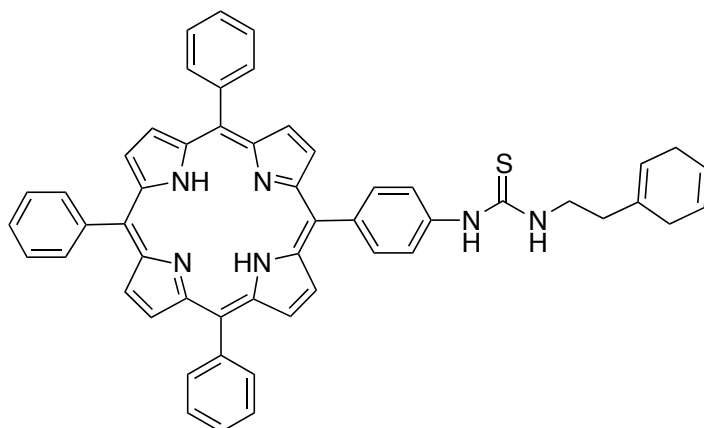
HR-MS (MALDI-TOF): m/z calcd for C₅₉H₄₅AuClN₆PS + H⁺: 1133.2591 Da [M+H]⁺. Found: 1133.2558 Da

HR-MS (ESI): m/z calcd for C₁₁₈H₉₀N₁₂P₂S₂Au₂ - 2Cl²⁺: 1097.28295 Da [2M-2Cl]²⁺. Found: 1097.28256 Da

UV-vis (THF): λ_{max} (nm) (ε, 10³ M⁻¹ cm⁻¹) 418 (356), 514 (18), 549 (9), 592 (5), 651 (4)

IR: ν̄ (cm⁻¹) 327 (ν_{Au-Cl}), 797 (ν_{C=S}), 1348 (ν_{C-N}), 1537 (ν_{N-C-N}), 3310 (ν_{N-H})

5-(4-(N-(2-(1,4-cyclohexadien-1-yl)ethyl)thiocarbamido)aminophenyl)-10,15,20-triphenylporphyrin 114



C₅₃H₄₂N₆S
Exact mass = 794.319 g.mol⁻¹
Molar mass = 795.006 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. 2-(2,5-Dihydrophenyl)ethylamine (73 mg, 0.59 mmol, 5.4 eq) and [TPP(*p*-NCS)] **99** (72 mg, 0.11 mmol, 1.0 eq) were dissolved in dichloromethane distilled (3 mL). The mixture was stirred for 4 h at room temperature and was purified by silica gel column chromatography (eluent: dichloromethane) to afford the compound **114** as a purple powder (87 mg, > 99%).

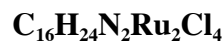
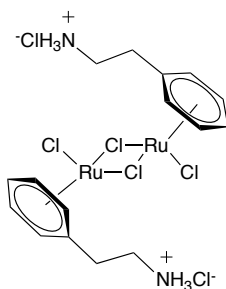
¹H NMR (500.13 MHz, CDCl₃): δ (ppm) - 2.76 (s, 2H, NH_{porph}), 2.43 (br t, 2H, ³*J* = 6.5 Hz, CH₂C₆H₇), 2.59 (m, 4H, C₆H_{7(CH2)2}), 3.90 (m, 2H, NH-CH₂), 5.59 (m, 2H, C₆H_{7(CH)2}), 5.73 (m, 1H, C₆H_{7(CH)}), 6.58 (m, 1H, NH), 7.56 (d, 2H, ³*J* = 8.1 Hz, C₆H₄NH), 7.73-7.81 (m, 9H, H_{Ar}), 7.97 (br s, 1H, NH), 8.22 (m, 6H, H_{Ar}), 8.26 (d, 2H, ³*J* = 8.2 Hz, C₆H₄NH), 8.79 (d, 2H, ³*J* = 4.6 Hz, H_β), 8.86 (s, 6H, H_β), 8.88 (d, 2H, ³*J* = 4.6 Hz, H_β)

HR-MS (MALDI-TOF): *m/z* calcd for C₅₃H₄₂N₆S + H⁺: 795.327 Da [M+H]⁺. Found: 795.279 Da

IR: $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) 794 (ν_{C=S}), 1351 (ν_{C-N}), 1515 (ν_{N-C-N}), 3164 (ν_{N-H})

Dichloro(η^6 -(phenylethylammonium chloride)ruthenium(II) dimer

117

Exact mass = 587.878 g.mol⁻¹Molar mass = 588.327 g.mol⁻¹

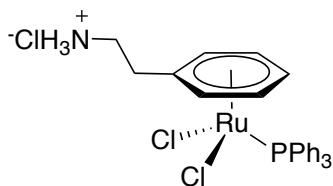
The reaction was carried out under an argon atmosphere. 2-(2,5-Dihydrophenyl)ethylamine (2.12 g, 17.2 mmol, 3.0 eq) was dissolved in methanol (40 mL). Hydrochloric acid at 37% (5 mL) was added dropwise to the mixture and the solution was stirred for 15 min at room temperature. The solvent was removed under reduced pressure. Ruthenium(III) chloride hydrate (1.49 g, 5.7 mmol, 1.0 eq) and ethanol degassed (40 mL) were added to the residue. The resulting solution was stirred and heated to reflux at the dark for 5 h (a black solution with orange highlights was obtained) and stirred at room temperature overnight (a khaki green precipitate was observed). The precipitate was filtered and washed with cold ethanol. The compound **117** was isolated as a khaki green powder (1.74 g, 92%).

¹H NMR (600.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 2.78 (t, 2H, $^3J = 7.5$ Hz, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 3.17 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}_3^+$), 5.86 (t, 1H, $^3J = 5.8$ Hz, *p*- C_6H_5), 5.90 (d, 2H, $^3J = 5.8$ Hz, *o*- C_6H_5), 6.03 (t, 2H, $^3J = 5.8$ Hz, *m*- C_6H_5), 8.12 (br s, 3H, NH_3^+)

HR-MS (ESI): m/z calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{Ru}_2\text{Cl}_4 - 2\text{H} - \text{Cl}^+$: 550.89264 Da $[\text{M}-2\text{HCl}]^+$. Found: 550.89349 Da

[Dichloro(triphenylphosphino)(η^6 -(phenylethylammonium chloride) ruthenium(II)]

119



Exact mass = 556.030 g.mol⁻¹

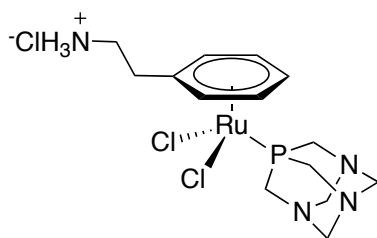
Molar mass = 556.449 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. Ruthenium complex **117** (251 mg, 0.38 mmol, 0.5 eq) and triarylphosphine (200 mg, 0.76 mmol, 1.0 eq) were dissolved in anhydrous dimethylformamide (8 mL). The solution was stirred for 16 h at room temperature. The resulting precipitate was filtered and washed with dichloromethane. The compound **119** was isolated as a khaki green powder (423 mg, 89%).

¹H NMR (300.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 2.82 (br t, 2H, ³*J* = 7.2 Hz, CH₂-C₆H₅-Ru), 3.20 (m, 2H, CH₂-NH₃⁺), 4.89 (br td, 1H, ³*J* = 5.8 Hz, ⁴*J* = 2.1 Hz, *p*-C₆H₅-Ru), 5.33 (br t, 2H, ³*J* = 5.8 Hz, *m*-C₆H₅-Ru), 5.58 (d, 2H, ³*J* = 5.8 Hz, *o*-C₆H₅-Ru), 7.40-7.51 (m, 9H, *o*- and *p*-PPh₃), 7.63 (m, 6H, *m*-PPh₃), 8.09 (br s, 3H, NH₃⁺)

³¹P{¹H} NMR (121.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 28.2

HR-MS (ESI): *m/z* calcd for C₂₆H₂₇NPRuCl₂⁺: 556.02973 Da [M]⁺. Found: 556.02930 Da

[Dichloro(PTA)(η^6 -(phenylethylammonium chloride)ruthenium(II)]**122**Exact mass = 451.016 g.mol⁻¹Molar mass = 451.317 g.mol⁻¹

The reaction was carried out under an argon atmosphere. Ruthenium complex **117** (315 mg, 0.48 mmol, 0.5 eq) and PTA (150 mg, 0.96 mmol, 1.0 eq) were dissolved in anhydrous dimethylformamide (13 mL). The solution was stirred for 3 h at room temperature. The resulting precipitate was filtered and washed with dichloromethane. The compound **122** was isolated as a khaki green powder (315 mg, 66%).

¹H NMR (500.13 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) 2.67 (t, 2H, $^3J = 7.6$ Hz, $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$), 3.16 (t, 2H, $^3J = 7.6$ Hz, $\text{CH}_2\text{-NH}_3^+$), 4.21 (s, 6H, P- $\text{CH}_2\text{-N}$), 4.45 (s, 6H, N- $\text{CH}_2\text{-N}$), 5.51 (br t, 1H, $^3J = 5.7$ Hz, *p*- C_6H_5), 5.73 (d, 2H, $^3J = 5.7$ Hz, *o*- C_6H_5), 5.78 (br t, 2H, $^3J = 5.7$ Hz, *m*- C_6H_5), 8.06 (br s, 3H, NH_3^+)

³¹P{¹H} NMR (202.5 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) - 31.4

Fluorescence measurements

Quartz cuvettes of 3 mL with path length of 1 cm equipped with a septum were used, and all solutions were Ar-degassed prior to measurements or prepared in glove box. Three different measurements (i.e., different solutions) were performed for each quantum yields. The sample concentrations were chosen to obtain an absorbance of about 0.05. Relative quantum efficiencies were obtained by comparing the areas under the corrected emission spectrum.

The equation $\Phi_x = \Phi_{st} (I_x/I_{st}) (A_{st}/A_x) (\eta_x^2/\eta_{st}^2)$ was used to calculate the quantum yield of the sample, where Φ_{st} is the reported quantum yield of the standard, I is the integrated emission spectrum, A is the absorbance at the excitation wavelength and η is the refractive index of the solvents used. X subscript denotes unknown, and st denotes standard.

Electrochemical experiments

Reagents and instrumentation

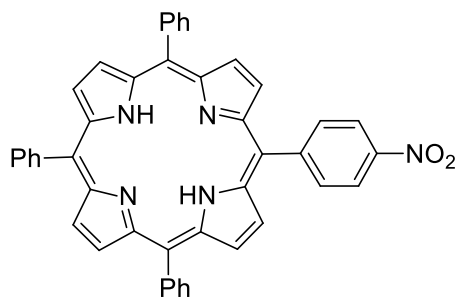
Tetra-*n*-butylammonium hexafluorophosphate (TBAPF₆) was synthesized by mixing stoichiometric amounts of tetra-*n*-butylammonium hydroxide (Alfa-Aesar, 40% w/w aq. sol.) and hexafluorophosphoric acid (Alfa-Aesar, ca. 60% w/w aq. sol.). After filtration, the salt was recrystallized three times in ethanol and dried at 80 °C for at least two days. CH₂Cl₂ (Carlo Erba 99.5%) was distilled from P₂O₅.

All electrochemical manipulations were performed using Schlenk techniques in an atmosphere of dry oxygen-free argon at room temperature ($T = 20^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$). The supporting electrolyte was degassed under vacuum before use and then dissolved to a concentration of 0.1 mol L⁻¹. Voltammetric analyses were carried out in a standard three-electrode cell, with an Autolab PGSTAT 302 N potentiostat, connected to an interfaced computer that employed Electrochemistry Nova software. The reference electrode was a saturated calomel electrode (SCE) separated from the analyzed solution by a sintered glass disk filled with the background solution. The auxiliary electrode was a platinum wire separated from the analyzed solution by a sintered glass disk filled with the background solution. For all voltammetric measurements, the working electrode was a platinum disk electrode ($\varnothing = 2$ mm). In these conditions, when operating in CH₂Cl₂ 0.1 M TBAPF₆ the formal potential for the Fc⁺/Fc couple was found to be +0.440 V vs. SCE.

Table 1: Potential values of A, B, C and ferrocene in CH₂Cl₂ 0.1 M TBAPF₆ in V vs. SCE.

Products	3 rd reduction	2 nd reduction	1 st reduction	1 st oxidation	2 nd oxidation
A	-1.800 ^a	~ -1.275 ^a	-1.165 ^a	1.045 (90) ^b	1.360 (90) ^b
B		-1.300 ^a	-1.165 ^a	1.150 (85) ^b	1.565 (85) ^b
C	-1.780 ^a	~ -1.030 ^a	~ -0.825 ^a	1.160 (85) ^b	
Ferrocene				0.440 (85) ^b	

^a E_{pc} , irreversible system. ^b $E_{1/2}$, reversible system, ΔE_p values ($\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc}$) are given in brackets (in mV).

A:Chemical Formula: $C_{44}H_{29}N_5O_2$

Exact Mass: 659,2321

Molecular Weight: 659,7334

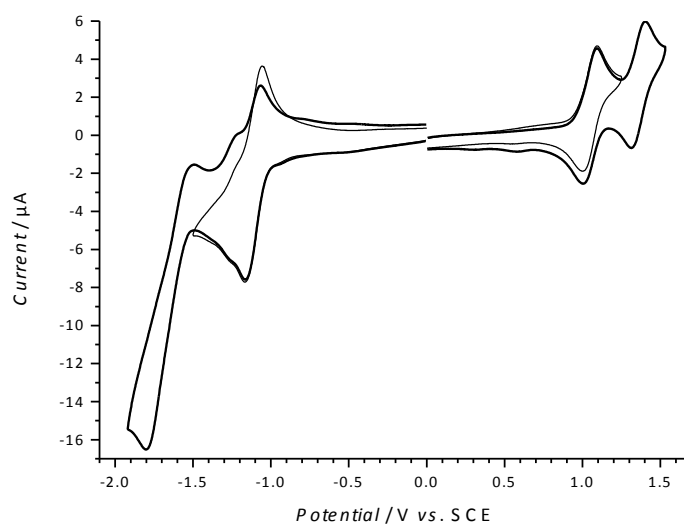


Figure 194 Cyclic voltammogram of **A** in CH_2Cl_2 0.1 M $TBAPF_6$. Concentration: 6.2×10^{-4} M; WE: Pt $\varnothing = 2$ mm, $n = 100$ mV s^{-1} .

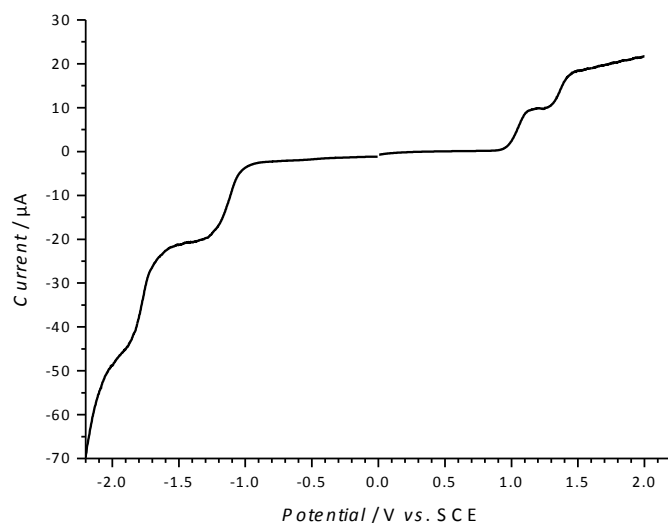
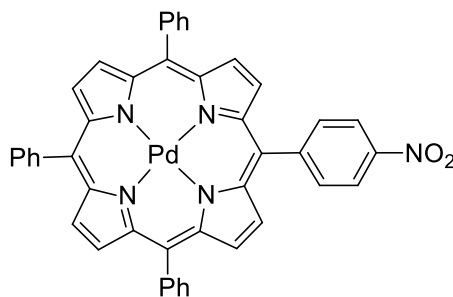


Figure 195 Rotating disk electrode voltammetry of **A** in CH_2Cl_2 0.1 M $TBAPF_6$. Concentration: 6.2×10^{-4} M; WE: Pt $\varnothing = 2$ mm, $n = 10$ mV s^{-1} , $w = 500$ rpm.

B:Chemical Formula: $C_{44}H_{27}N_5O_2Pd$

Exact Mass: 763,1200

Molecular Weight: 764,1375

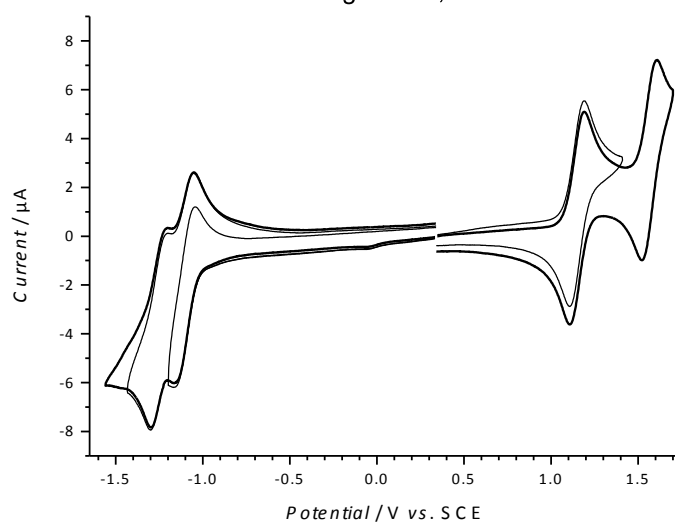


Figure 196 Cyclic voltammogram of **B** in CH_2Cl_2 0.1 M $TBAPF_6$. Concentration: 5.2×10^{-4} M; WE: Pt $\varnothing = 2$ mm, $n = 100$ mV s^{-1} .

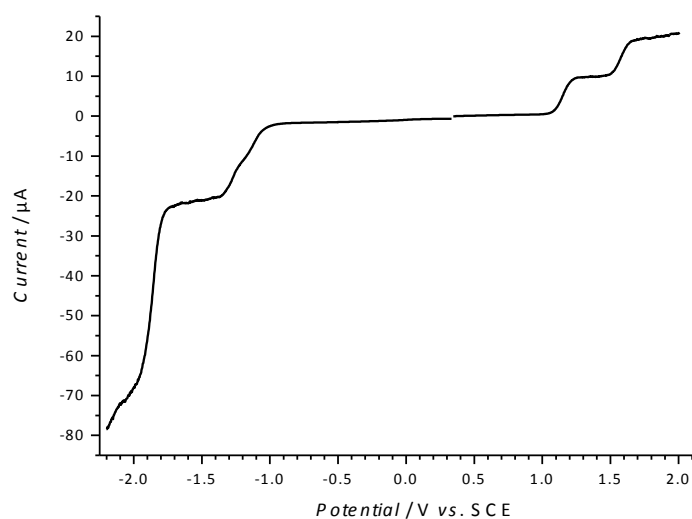
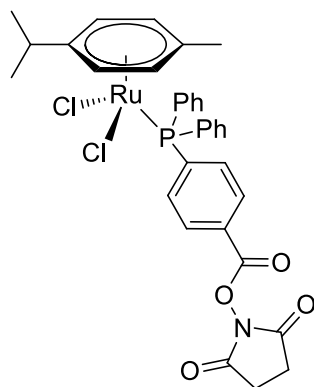


Figure 197 Rotating disk electrode voltammetry of **B** in CH_2Cl_2 0.1 M $TBAPF_6$. Concentration: 5.2×10^{-4} M; WE: Pt $\varnothing = 2$ mm, $n = 10$ mV s^{-1} , $w = 500$ rpm.

C:

Chemical Formula:
 $\text{C}_{34}\text{H}_{35}\text{Cl}_2\text{NO}_4\text{PRu}$
 Exact Mass: 724,0724
 Molecular Weight: 724,5958

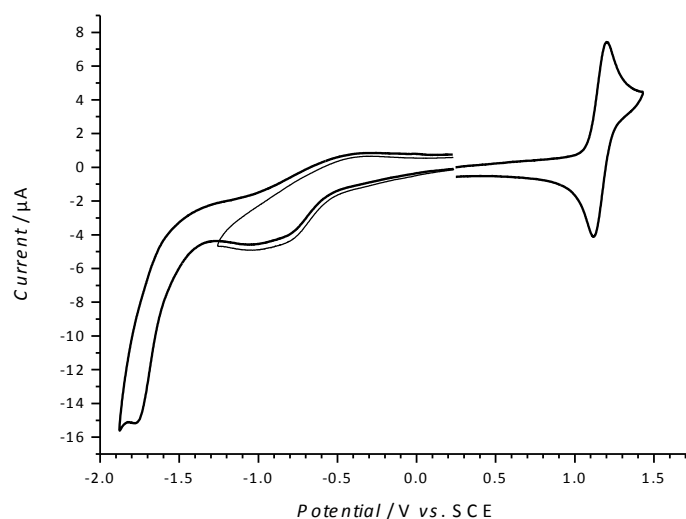


Figure 198 Cyclic voltammogram of **C** in CH_2Cl_2 0.1 M TBAPF_6 . Concentration: 6.6×10^{-4} M; WE: Pt $\varnothing = 2$ mm, $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

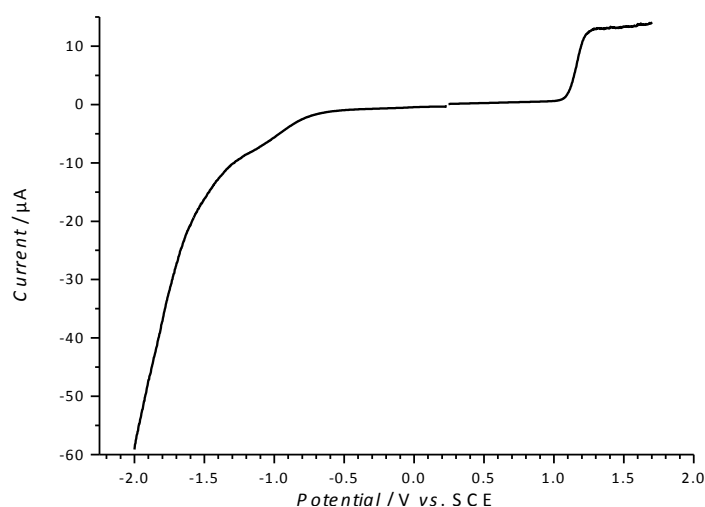


Figure 199 Rotating disk electrode voltammetry of **C** in CH_2Cl_2 0.1 M TBAPF_6 . Concentration: 6.6×10^{-4} M; WE: Pt $\varnothing = 2$ mm, $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$, $w = 500 \text{ rpm}$.

Biological experiments

Antiproliferative assays

Human A27807S and A2780cisR cells were obtained from the European Centre of Cell Cultures (ECACC, Salisbury, UK). All cell culture reagents were obtained from Gibco-BRL (Basel, Switzerland). Cells were grown in RPMI 1640 medium containing 10% fetal calf serum (FCS) and antibiotics. Cisplatin was purchased at Sigma-Aldrich, and auranofin at Vinci Biochem. Stock solutions of the complexes (in DMSO) were diluted in complete medium to the required concentration. DMSO at comparable concentrations did not show any effects on cell cytotoxicity.

For cytotoxicity screening cells were grown in 96-well cell culture plates (Corning, NY) at a density of 25×10^3 cells per well. The culture medium was replaced with fresh medium containing the complexes at concentrations varying from 20 to 200 μM , with an exposure time of 72 h. Thereafter, the medium was replaced by fresh medium and cell survival was measured using the MTT test as previously described. Briefly, 3-(4,5-dimethyl-2-thiazoyl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT, Merck) was added at 250 $\mu\text{g/mL}$ and incubation was continued for 2 h. Then the cell culture supernatants were removed, the cell layer was dissolved in DMSO, and absorbance at 540 nm was measured in a 96-well multiwell-plate reader (iEMS Reader MF, Labsystems, Bioconcept, Switzerland) and compared to the values of control cells incubated in the absence of complexes. Experiments were conducted in quadruplicate wells and repeated at least twice.

Determination of Cell-Associated Drug Fluorescence by Fluorescence Microscopy

A2780S Cells were grown for 24 h on chambered coverglass (Lab-Tek, NUNC) slides in complete medium at a density of 1×10^4 and later exposed (10 and 20 μM) at 37 °C in the dark. Excess complex was washed away with PBS after 1 and 2 h incubation, and before observation. The measurement chamber was placed on the stage of an inverted confocal fluorescence microscope (LS M700, Zeiss) equipped with a 40 \times oil immersion objective (Zeiss). The laser line for excitation of BODIPY compounds were 488 nm and 515 nm, respectively. Fluorescence signal intensities were evaluated by using Zeiss LSM software. Colocalization map was obtained with ImageJ software, using its colocalization plugin.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) Green, B. R.; Parson, W. W. *Light-Harvesting Antennas in Photosynthesis*, 2003; Vol. 13.
- (2) Pascal, A. A.; Liu, Z.; Broess, K.; van Oort, B.; van Amerongen, H.; Wang, C.; Horton, P.; Robert, B.; Chang, W.; Ruban, A. *Nature* **2005**, 436, 134.
- (3) Loll, B.; Kern, J.; Saenger, W.; Zouni, A.; Biesiadka, J. *Nature* **2005**, 438, 1040.
- (4) Liu, Z.; Yan, H.; Wang, K.; Kuang, T.; Zhang, J.; Gui, L.; An, X.; Chang, W. *Nature* **2004**, 428, 287.
- (5) Jordan, P.; Fromme, P.; Witt, H. T.; Klukas, O.; Saenger, W.; Krausz, N. *Nature* **2001**, 411, 909.
- (6) Ferreira, K. N.; Iverson, T. M.; Maghlaoui, K.; Barber, J.; Iwata, S. *Science* **2004**, 303, 1831.
- (7) Thèse de Benoît Habermeyer, Dijon, le 08 juillet 2011.
- (8) Wasielewski, M. R. *Acc. Chem. Res.* **2009**, 42, 1910.
- (9) Imahori, H.; Umeyama, T.; Ito, S. *Acc. Chem. Res.* **2009**, 42, 1809.
- (10) Ohkubo, K.; Fukuzumi, S. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2009**, 82, 303.
- (11) Gust, D.; Moore, T. A.; Moore, A. L. *Acc. Chem. Res.* **2009**, 42, 1890.
- (12) Aratani, N.; Kim, D.; Osuka, A. *Acc. Chem. Res.* **2009**, 42, 1922.
- (13) Chang, C. K. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1977**, 800.
- (14) Collman, J. P.; Elliott, C. M.; Halbert, T. R.; Tovrog, B. S. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1977**, 74, 18.
- (15) Harvey, P. D.; Proulx, N.; Martin, G.; Drouin, M.; Nurco, D. J.; Smith, K. M.; Bolze, F.; Gros, C. P.; Guillard, R. *Inorg. Chem.* **2001**, 40, 4134.
- (16) Bolze, F.; Gros, C. P.; Drouin, M.; Espinosa, E.; Harvey, P. D.; Guillard, R. *J. Organomet. Chem.* **2002**, 643–644, 89.
- (17) Faure, S.; Stern, C.; Guillard, R.; Harvey, P. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 1253.
- (18) Dexter, D. L. *J. Chem. Phys.* **1953**, 21, 836.
- (19) Förster, T. *Discuss. Faraday Soc.* **1959**, No. 27, 7.
- (20) Sanders, J. K. M.; Bampos, N.; Clyde-Watson, Z.; Darling, S. L.; Hawley, J. C.; Kim, H.-J.; Mak, C. C.; Webb, S. J.; Academic Press: 2000; Vol. 3, p 1.
- (21) Gouterman, M. *J. Mol. Spectrosc.* **1961**, 6, 138.
- (22) Rothmund, P. *J. Am. Chem. Soc.* **1935**, 57, 2010.
- (23) Rothmund, P.; Menotti, A. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1941**, 63, 267.
- (24) Adler, A. D.; Longo, F. R.; Finarelli, J. D.; Goldmacher, J.; Assour, J.; Korsakoff, L. *J. Org. Chem.* **1967**, 32, 476.
- (25) Adler, A. D.; Sklar, L.; Longo, F. R.; Finarelli, J. D.; Finarelli, M. G. *J. Heterocycl. Chem.* **1968**, 5, 669.
- (26) Lindsey, J. S.; Hsu, H. C.; Schreiman, I. C. *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 4969.
- (27) Lindsey, J. S.; Schreiman, I. C.; Hsu, H. C.; Kearney, P. C.; Marguerettaz, A. M. *The Journal of Organic Chemistry* **1987**, 52, 827.
- (28) Lindsey, J. S.; Wagner, R. W. *The Journal of Organic Chemistry* **1989**, 54, 828.
- (29) Little, R. G.; Anton, J. A.; Loach, P. A.; Ibers, J. A. *J. Heterocycl. Chem.* **1975**, 12, 343.
- (30) Markovac, A.; MacDonald, S. F. *Can. J. Chem.* **1965**, 43.
- (31) Knorr, L. *Annalen* **1886**, 236, 290.
- (32) Knorr, L. *Ber.* **1884**, 17.
- (33) Barton, D. H. R.; Zard, S. Z. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1985**, 1098.
- (34) Smith, K. M.; Academic Press: 2000; Vol. 1, p 1.
- (35) Littler, B. J.; Ciringh, Y.; Lindsey, J. S. *The Journal of Organic Chemistry* **1999**, 64, 2864.
- (36) Barbe, J.-M.; Canard, G.; Brandès, S.; Guillard, R. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 2005, 4601.
- (37) Cook, A. F.; Maichuk, D. T. *The Journal of Organic Chemistry* **1970**, 35, 1940.
- (38) Harris, D.; Johnson, A. W.; Gaete-Holmes, R. *Bioorg. Chem.* **1980**, 9, 63.

-
- (39) Andrä, K. *J. Organomet. Chem.* **1968**, *11*, 567.
- (40) Kalirai, B. S.; Foulon, J.-D.; Hamor, T. A.; Jones, C. J.; Beer, P. D.; Fricker, S. P. *Polyhedron* **1991**, *10*, 1847.
- (41) Besançon, J.; Huq, F.; Colette, M. *J. Organomet. Chem.* **1975**, *96*, 63.
- (42) Besançon, J.; Top, S.; Tirouflet, J.; Dusausoy, Y.; Lecomte, C.; Protas, J. *J. Organomet. Chem.* **1977**, *127*, 153.
- (43) Amor, J. I.; Burton, N. C.; Cuenca, T.; Gómez-Sal, P.; Royo, P. *J. Organomet. Chem.* **1995**, *485*, 153.
- (44) Jutzi, P.; Redeker, T.; Neumann, B.; Stammli, H.-G. *Organometallics* **1996**, *15*, 4153.
- (45) Köcher, S.; Walfort, B.; Rheinwald, G.; Rüffer, T.; Lang, H. *J. Organomet. Chem.* **2008**, *693*, 3213.
- (46) Schobert, R. *J. Organomet. Chem.* **1991**, *405*, 201.
- (47) Clauss, K.; Bestian, H. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1962**, *654*, 8.
- (48) Lang, H.; Stein, T. *J. Organomet. Chem.* **2002**, *641*, 41.
- (49) Back, S.; Pritzkow, H.; Lang, H. *Organometallics* **1998**, *17*, 41.
- (50) Hoffman, D. M.; Chester, N. D.; Fay, R. C. *Organometallics* **1983**, *2*, 48.
- (51) <http://globocan.iarc.fr/factsheets/populations/factsheet.asp?uno=900>.
- (52) <http://www.unicancer.fr/le-groupe-unicancer/les-chiffres-cles/les-chiffres-du-cancer-en-france>.
- (53) Weissleder, R.; Pittet, M. J. *Nature* **2008**, *452*, 580.
- (54) Weissleder, R.; Ross, B. D.; Rehemtulla, A.; Gambhir, S. S. *Molecular Imaging: Principles and Practice*; 1 ed., 2010.
- (55) Funkhouser, J. *Current Drug Discovery* **2002**, *2*.
- (56) Rosenberg, B.; Vancamp, L.; Trosko, J. E.; Mansour, V. H. *Nature* **1969**, *222*, 385.
- (57) Kilpin, K. J.; Dyson, P. J. *Chemical Science* **2013**, *4*, 1410.
- (58) Mulcahy, S.; Meggers, E. In *Medicinal Organometallic Chemistry*; Jaouen, G., Metzler-Nolte, N., Eds.; Springer Berlin Heidelberg: 2010; Vol. 32, p 141.
- (59) culturesciencesphysique.ens-lyon.fr.
- (60) <http://www.cea.fr/jeunes/themes/la-radioactivite/l-imagerie-medicale/les-principes-et-les-outils-deuxieme-partie>.
- (61) Zhou, Z.; Lu, Z.-R. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology* **2013**, *5*, 1.
- (62) Culver, J.; Akers, W.; Achilefu, S. *J. Nucl. Med.* **2008**, *49*, 169.
- (63) Valeur, B. *Invitation à la fluorescence moléculaire*, 2004.
- (64) Jablonski, A. *Nature (London, U. K.)* **1933**, *131*, 839.
- (65) http://www.edu.upmc.fr/sdv/docs_sdvbmc/Master/ue/MV426/fluo89.pdf.
- (66) Pierce, M. C.; Javier, D. J.; Richards-Kortum, R. *Int. J. Cancer* **2008**, *123*, 1979.
- (67) <http://sylvain.bier.free.fr/radio/radio.htm>.
- (68) Vo-Dinh, T. *Biomedical Photonics Handbook*, 2003; Vol. 125.
- (69) Amiot, C.; Xu, S.; Liang, S.; Pan, L.; Zhao, J. *Sensors* **2008**, *8*, 3082.
- (70) Paganin-Gioanni, A.; Bellard, E.; Golzio, M.; Tiessie, J. *STAL* **2009**, *36*.
- (71) Nickell, S.; Hermann, M.; Essenpreis, M.; Farrell, T. J.; Kramer, U.; Patterson, M. S. *Phys. Med. Biol.* **2000**, *45*, 2873.
- (72) Kobayashi, H.; Ogawa, M.; Alford, R.; Choyke, P. L.; Urano, Y. *Chem. Rev.* **2009**, *110*, 2620.
- (73) He, X.; Gao, J.; Gambhir, S. S.; Cheng, Z. *Trends Mol. Med.* **2010**, *16*, 574.
- (74) Gao, J.; Chen, X.; Cheng, Z. *Curr. Top. Med. Chem. (Sharjah, United Arab Emirates)* **2010**, *10*, 1147.
- (75) Wagner, M.; Li, F.; Li, J.; Li, X.-F.; Le, X. C. *Anal. Bioanal. Chem.* **2010**, *397*, 3213.
- (76) Wang, C.; Gao, X.; Su, X. *Anal. Bioanal. Chem.* **2010**, *397*, 1397.
- (77) Ballou, B. *Curr. Top. Dev. Biol.* **2005**, *70*, 103.
- (78) http://www.aist.go.jp/aist_e/aist_today/2006_21/hot_line/hot_line_22.html.

- (79) Mazumder, S.; Dey, R.; Mitra, M. K.; Mukherjee, S.; Das, G. C. *J. Nanomater.* **2009**.
- (80) Cai, W.; Hsu, A.; Li, Z.-B.; Chen, X. *Nanoscale Research Letters* **2007**, 2, 265.
- (81) Smith, A. M.; Duan, H.; Mohs, A. M.; Nie, S. *Adv. Drug Delivery. Rev.* **2008**, 60, 1226.
- (82) He, X.; Wang, K.; Cheng, Z. *Wiley Interdiscip. Rev.: Nanomed. Nanobiotechnol.* **2010**, 2, 349.
- (83) Shimomura, O.; Johnson, F. H.; Saiga, Y. *J. Cell. Comp. Physiol.* **1962**, 59, 223.
- (84) Prasher, D. C.; Eckenrode, V. K.; Ward, W. W.; Prendergast, F. G.; Cormier, M. J. *Gene* **1992**, 111, 229.
- (85) Örmö, M.; Cubitt, A. B.; Kallio, K.; Gross, L. A.; Tsien, R. Y.; Remington, S. J. *Science* **1996**, 273, 1392.
- (86) Shaner, N. C.; Patterson, G. H.; Davidson, M. W. *J. Cell Sci.* **2007**, 120, 4247.
- (87) Lichtman, J. W.; Conchello, J.-A. *Nat. Meth.* **2005**, 2, 910.
- (88) Shu, X.; Royant, A.; Lin, M. Z.; Aguilera, T. A.; Lev-Ram, V.; Steinbach, P. A.; Tsien, R. Y. *Science* **2009**, 324, 804.
- (89) Pansare, V. J.; Hejazi, S.; Faenza, W. J.; Prud'homme, R. K. *Chem. Mater.* **2012**, 24, 812.
- (90) Lavis, L. D.; Raines, R. T. *ACS Chem. Biol.* **2008**, 3, 142.
- (91) Hewitt, J. T.; Perkins, B. W. *J. Chem. Soc. London* **1900**, 77, 1324.
- (92) Mujumdar, R. B.; Ernst, L. A.; Mujumdar, S. R.; Waggoner, A. S. *Cytometry* **1989**, 10, 11.
- (93) Ko, S.-K.; Yang, Y.-K.; Tae, J.; Shin, I. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 14150.
- (94) <http://www.lifetechnologies.com/fr/fr/home/brands/molecular-probes/key-molecular-probes-products/alexa-fluor.html>.
- (95) Ballou, B.; Ernst, L. A.; Waggoner, A. S. *Curr. Med. Chem.* **2005**, 12, 795.
- (96) Yamane, T.; Hanaoka, K.; Muramatsu, Y.; Tamura, K.; Adachi, Y.; Miyashita, Y.; Hirata, Y.; Nagano, T. *Bioconjug. Chem.* **2011**, 22, 2227.
- (97) Lee, H.; Mason, J. C.; Achilefu, S. *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 7862.
- (98) te Velde, E. A.; Veerman, T.; Subramaniam, V.; Ruers, T. *European Journal of Surgical Oncology (EJSO)* **2010**, 36, 6.
- (99) Ohnishi, S.; Vanderheyden, J. L.; Tanaka, E.; Patel, B.; De Grand, A. M.; Laurence, R. G.; Yamashita, K.; Frangioni, J. V. *Am. J. Transplant.* **2006**, 6, 2321.
- (100) Galanski, M.; Jakupec, M. A.; Keppler, B. K. *Curr. Med. Chem.* **2005**, 12, 2075.
- (101) Wong, E.; Giandomenico, C. M. *Chem. Rev.* **1999**, 99, 2451.
- (102) Han Ang, W.; Dyson, P. J. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2006**, 2006, 4003.
- (103) Reedijk, J. *Chem. Commun.* **1996**, 801.
- (104) Ohndorf, U.-M.; Rould, M. A.; He, Q.; Pabo, C. O.; Lippard, S. J. *Nature* **1999**, 399, 708.
- (105) Clarke, M. J. *Coord. Chem. Rev.* **2003**, 236, 209.
- (106) Clarke, M. J.; Bitler, S.; Rennert, D.; Buchbinder, M.; Kelman, A. D. *J. Inorg. Biochem.* **1980**, 12, 79.
- (107) Schluga, P.; Hartinger, C. G.; Egger, A.; Reisner, E.; Galanski, M.; Jakupec, M. A.; Keppler, B. K. *Dalton Trans.* **2006**, 1796.
- (108) Kapitza, S.; Pongratz, M.; Jakupec, M. A.; Heffeter, P.; Berger, W.; Lackinger, L.; Keppler, B. K.; Marian, B. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **2005**, 131, 101.
- (109) Musgrove, E.; Rugg, C.; Taylor, I.; Hedley, D. *J. Cell. Physiol.* **1984**, 118, 6.
- (110) Alessio, E.; Mestroni, G.; Bergamo, A.; Sava, G. *Curr. Top. Med. Chem. (Sharjah, United Arab Emirates)* **2004**, 4, 1525.
- (111) Bonetti, A.; Leone, R.; Muggia, F. M.; Howell, S. B. *Platinum and Other Heavy Metal Compounds in Cancer Chemotherapy*, 2009.
- (112) Clarke, M. J.; Zhu, F.; Frasca, D. R. *Chem. Rev.* **1999**, 99, 2511.
- (113) Cauci, S.; Alessio, E.; Mestroni, G.; Quadrifoglio, F. *Inorg. Chim. Acta* **1987**, 137, 19.
- (114) Mestroni, G.; Alessio, E.; Calligaris, M.; Attia, W.; Quadrifoglio, F.; Cauci, S.; Sava, G.; Zorzet, S.; Pacor, S.; Monti-Bragadin, C.; Tamaro, M.; Dolzani, L. In *Ruthenium and Other Non-Platinum Metal Complexes in Cancer Chemotherapy*; Baulieu, E., Forman, D., Ingelman-Sundberg,

-
- M., Jaenicke, L., Kellen, J., Nagai, Y., Springer, G., Träger, L., Will-Shahab, L., Wittliff, J., Eds.; Springer Berlin Heidelberg: 1989; Vol. 10, p 71.
- (115) Loseto, F.; Alessio, E.; Mestroni, G.; Lacidogna, G.; Nassi, A.; Giordano, D.; Coluccia, M. *Anticancer Res.* **1991**, *11*, 1549.
- (116) Sava, G.; Gagliardi, R.; Bergamo, A.; Alessio, E.; Mestroni, G. *Anticancer Res.* **1999**, *19*, 969.
- (117) Hartinger, C. G.; Zorbas-Seifried, S.; Jakupec, M. A.; Kynast, B.; Zorbas, H.; Keppler, B. K. *J. Inorg. Biochem.* **2006**, *100*, 891.
- (118) Kratz, F.; Hartmann, M.; Keppler, B.; Messori, L. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 2581.
- (119) Küng, A.; Pieper, T.; Keppler, B. K. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* **2001**, *759*, 81.
- (120) Malina, J.; Novakova, O.; Keppler, B. K.; Alessio, E.; Brabec, V. *JBIC J. Biol. Inorg. Chem.* **2001**, *6*, 435.
- (121) Egger, A.; Arion, V. B.; Reisner, E.; Cebrián-Losantos, B.; Shova, S.; Trettenhahn, G.; Keppler, B. K. *Inorg. Chem.* **2004**, *44*, 122.
- (122) Jakupec, M. A.; Galanski, M.; Arion, V. B.; Hartinger, C. G.; Keppler, B. K. *Dalton Trans.* **2008**, 183.
- (123) Sava, G.; Zorzet, S.; Turrin, C.; Vita, F.; Soranzo, M.; Zabucchi, G.; Cocchietto, M.; Bergamo, A.; DiGiovine, S.; Pezzoni, G.; Sartor, L.; Garbisa, S. *Clin. Cancer Res.* **2003**, *9*, 1898.
- (124) Sava, G.; Frausin, F.; Cocchietto, M.; Vita, F.; Podda, E.; Spessotto, P.; Furlani, A.; Scarcia, V.; Zabucchi, G. *Eur. J. Cancer* **2004**, *40*, 1383.
- (125) Frausin, F.; Scarcia, V.; Cocchietto, M.; Furlani, A.; Serli, B.; Alessio, E.; Sava, G. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2005**, *313*, 227.
- (126) Gava, B.; Zorzet, S.; Spessotto, P.; Cocchietto, M.; Sava, G. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2006**, *317*, 284.
- (127) Pintus, G.; Tadolini, B.; Posadino, A. M.; Sanna, B.; Debidda, M.; Bennardini, F.; Sava, G.; Ventura, C. *Eur. J. Biochem.* **2002**, *269*, 5861.
- (128) Debidda, M.; Sanna, B.; Cossu, A.; Posadino, A. M.; Tadolini, B.; Ventura, C.; Pintus, G. *Int. J. Oncol.* **2003**, *23*, 477.
- (129) Pluim, D.; Waardenburg, R. A. M.; Beijnen, J.; Schellens, J. M. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2004**, *54*, 71.
- (130) Morbidelli, L.; Donnini, S.; Filippi, S.; Messori, L.; Piccioli, F.; Orioli, P.; Sava, G.; Ziche, M. *Br. J. Cancer* **2003**, *88*, 1484.
- (131) Dale, L. D.; Tocher, J. H.; Dyson, T. M.; Edwards, D. I.; Tocher, D. A. *Anticancer. Drug Des.* **1992**, *7*, 3.
- (132) Allardyce, C. S.; Dyson, P. J.; Ellis, D. J.; Salter, P. A.; Scopelliti, R. *J. Organomet. Chem.* **2003**, *668*, 35.
- (133) Allardyce, C. S.; Dyson, P. J.; Ellis, D. J.; Heath, S. L. *Chem. Commun.* **2001**, 1396.
- (134) Scolaro, C.; Bergamo, A.; Brescacin, L.; Delfino, R.; Cocchietto, M.; Laurency, G.; Geldbach, T. J.; Sava, G.; Dyson, P. J. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 4161.
- (135) Bravo, J.; Bolaño, S.; Gonsalvi, L.; Peruzzini, M. *Coord. Chem. Rev.* **2010**, *254*, 555.
- (136) Dorcier, A.; Dyson, P. J.; Gossens, C.; Rothlisberger, U.; Scopelliti, R.; Tavernelli, I. *Organometallics* **2005**, *24*, 2114.
- (137) Yan, Y. K.; Melchart, M.; Habtemariam, A.; Sadler, P. J. *Chem. Commun.* **2005**, 4764.
- (138) Dyson, P. J.; Sava, G. *Dalton Trans.* **2006**, 1929.
- (139) Ang, W. H.; Daldini, E.; Juillerat-Jeanneret, L.; Dyson, P. J. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 9048.
- (140) Aird, R. E.; Cummings, J.; Ritchie, A. A.; Muir, M.; Morris, R. E.; Chen, H.; Sadler, P. J.; Jodrell, D. I. *Br. J. Cancer* **2002**, *86*, 1652.
- (141) Novakova, O.; Chen, H.; Vrana, O.; Rodger, A.; Sadler, P. J.; Brabec, V. *Biochemistry* **2003**, *42*, 11544.
- (142) Liu, H.-K.; Wang, F.; Parkinson, J. A.; Bella, J.; Sadler, P. J. *Chemistry – A European Journal* **2006**, *12*, 6151.

- (143) Wang, F.; Xu, J.; Habtemariam, A.; Bella, J.; Sadler, P. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17734.
- (144) Morris, R. E.; Aird, R. E.; del Socorro Murdoch, P.; Chen, H.; Cummings, J.; Hughes, N. D.; Parsons, S.; Parkin, A.; Boyd, G.; Jodrell, D. I.; Sadler, P. J. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 3616.
- (145) Habtemariam, A.; Melchart, M.; Fernández, R.; Parsons, S.; Oswald, I. D. H.; Parkin, A.; Fabbiani, F. P. A.; Davidson, J. E.; Dawson, A.; Aird, R. E.; Jodrell, D. I.; Sadler, P. J. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 6858.
- (146) Gaiddon, C.; Jeannequin, P.; Bischoff, P.; Pfeffer, M.; Sirlin, C.; Loeffler, J. P. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2005**, *315*, 1403.
- (147) Fetzer, L.; Boff, B.; Ali, M.; Xiangjun, M.; Collin, J.-P.; Sirlin, C.; Gaiddon, C.; Pfeffer, M. *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 8869.
- (148) Meng, X.; Leyva, M. L.; Jenny, M.; Gross, I.; Benosman, S.; Fricker, B.; Harlepp, S.; Hébraud, P.; Boos, A.; Wlosik, P.; Bischoff, P.; Sirlin, C.; Pfeffer, M.; Loeffler, J.-P.; Gaiddon, C. *Cancer Res.* **2009**, *69*, 5458.
- (149) Schmid, W. F.; John, R. O.; Arion, V. B.; Jakupec, M. A.; Keppler, B. K. *Organometallics* **2007**, *26*, 6643.
- (150) Stepanenko, I. N.; Krokhin, A. A.; John, R. O.; Roller, A.; Arion, V. B.; Jakupec, M. A.; Keppler, B. K. *Inorg. Chem.* **2008**, *47*, 7338.
- (151) Büchel, G. E.; Stepanenko, I. N.; Hejl, M.; Jakupec, M. A.; Arion, V. B.; Keppler, B. K. *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 10737.
- (152) Schuecker, R.; John, R. O.; Jakupec, M. A.; Arion, V. B.; Keppler, B. K. *Organometallics* **2008**, *27*, 6587.
- (153) Reisner, E.; Arion, V. B.; Keppler, B. K.; Pombeiro, A. J. L. *Inorg. Chim. Acta* **2008**, *361*, 1569.
- (154) Barry, N. P. E.; Edafe, F.; Dyson, P. J.; Therrien, B. *Dalton Trans.* **2010**, *39*, 2816.
- (155) Dorcier, A.; Ang, W. H.; Bolaño, S.; Gonsalvi, L.; Juillerat-Jeannerat, L.; Laurenczy, G.; Peruzzini, M.; Phillips, A. D.; Zanobini, F.; Dyson, P. J. *Organometallics* **2006**, *25*, 4090.
- (156) Renfrew, A. K.; Phillips, A. D.; Egger, A. E.; Hartinger, C. G.; Bosquain, S. S.; Nazarov, A. A.; Keppler, B. K.; Gonsalvi, L.; Peruzzini, M.; Dyson, P. J. *Organometallics* **2009**, *28*, 1165.
- (157) Hanif, M.; Nazarov, A. A.; Hartinger, C. G.; Kandioller, W.; Jakupec, M. A.; Arion, V. B.; Dyson, P. J.; Keppler, B. K. *Dalton Trans.* **2010**, *39*, 7345.
- (158) Peacock, A. F. A.; Parsons, S.; Sadler, P. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 3348.
- (159) van Rijt, S. H.; Peacock, A. F. A.; Johnstone, R. D. L.; Parsons, S.; Sadler, P. J. *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 1753.
- (160) van Rijt, S. H.; Hebden, A. J.; Amaresekera, T.; Deeth, R. J.; Clarkson, G. J.; Parsons, S.; McGowan, P. C.; Sadler, P. J. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 7753.
- (161) Peacock, A. F. A.; Habtemariam, A.; Moggach, S. A.; Prescimone, A.; Parsons, S.; Sadler, P. J. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 4049.
- (162) Bergamo, A.; Masi, A.; Peacock, A. F. A.; Habtemariam, A.; Sadler, P. J.; Sava, G. *J. Inorg. Biochem.* **2010**, *104*, 79.
- (163) Peacock, A. F. A.; Habtemariam, A.; Fernández, R.; Walland, V.; Fabbiani, F. P. A.; Parsons, S.; Aird, R. E.; Jodrell, D. I.; Sadler, P. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 1739.
- (164) Peacock, A. F. A.; Melchart, M.; Deeth, R. J.; Habtemariam, A.; Parsons, S.; Sadler, P. J. *Chemistry – A European Journal* **2007**, *13*, 2601.
- (165) Ronconi, L.; Sadler, P. J. *Coord. Chem. Rev.* **2007**, *251*, 1633.
- (166) Kostrhunova, H.; Florian, J.; Novakova, O.; Peacock, A. F. A.; Sadler, P. J.; Brabec, V. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 3635.
- (167) Peacock, A. F. A.; Sadler, P. J. *Chemistry – An Asian Journal* **2008**, *3*, 1890.
- (168) Bruijninx, P. C. A.; Sadler, P. J. In *Adv. Inorg. Chem.*; Rudi van, E., Colin, D. H., Eds.; Academic Press: 2009; Vol. Volume 61, p 1.
- (169) van Rijt, S. H.; Mukherjee, A.; Pizarro, A. M.; Sadler, P. J. *J. Med. Chem.* **2009**, *53*, 840.

- (170) Büchel, G. E.; Stepanenko, I. N.; Hejl, M.; Jakupec, M. A.; Keppler, B. K.; Arion, V. B. *Inorg. Chem.* **2011**, *50*, 7690.
- (171) Cebrián-Losantos, B.; Krokhin, A. A.; Stepanenko, I. N.; Eichinger, R.; Jakupec, M. A.; Arion, V. B.; Keppler, B. K. *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 5023.
- (172) Egger, A.; Cebrián-Losantos, B.; Stepanenko, I. N.; Krokhin, A. A.; Eichinger, R.; Jakupec, M. A.; Arion, V. B.; Keppler, B. K. *Chem. Biodiversity* **2008**, *5*, 1588.
- (173) Schmid, W. F.; John, R. O.; Mühlgassner, G.; Heffeter, P.; Jakupec, M. A.; Galanski, M.; Berger, W.; Arion, V. B.; Keppler, B. K. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 6343.
- (174) Filak, L. K.; Mühlgassner, G.; Bacher, F.; Roller, A.; Galanski, M.; Jakupec, M. A.; Keppler, B. K.; Arion, V. B. *Organometallics* **2010**, *30*, 273.
- (175) Debreczeni, J. É.; Bullock, A. N.; Atilla, G. E.; Williams, D. S.; Bregman, H.; Knapp, S.; Meggers, E. *Angewandte Chemie International Edition* **2006**, *45*, 1580.
- (176) Meggers, E.; Atilla-Gokcumen, G. E.; Bregman, H.; Maksimoska, J.; Mulcahy, S. P.; Pagano, N.; Williams, D. S. *Synlett* **2007**, 2007, 1177.
- (177) Maksimoska, J.; Williams, D. S.; Atilla-Gokcumen, G. E.; Smalley, K. S. M.; Carroll, P. J.; Webster, R. D.; Filippakopoulos, P.; Knapp, S.; Herlyn, M.; Meggers, E. *Chemistry – A European Journal* **2008**, *14*, 4816.
- (178) Smalley, K. S. M.; Contractor, R.; Haass, N. K.; Kulp, A. N.; Atilla-Gokcumen, G. E.; Williams, D. S.; Bregman, H.; Flaherty, K. T.; Soengas, M. S.; Meggers, E.; Herlyn, M. *Cancer Res.* **2007**, *67*, 209.
- (179) Berners-Price, S. J.; Mirabelli, C. K.; Johnson, R. K.; Mattern, M. R.; McCabe, F. L.; Faucette, L. F.; Sung, C.-M.; Mong, S.-M.; Sadler, P. J.; Crooke, S. T. *Cancer Res.* **1986**, *46*, 5486.
- (180) Berners-Price, S. J.; Sadler, P. J. *Struct. Bonding (Berlin)* **1988**, *70*, 27.
- (181) Marcon, G.; Carotti, S.; Coronello, M.; Messori, L.; Mini, E.; Orioli, P.; Mazzei, T.; Cinellu, M. A.; Minghetti, G. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 1672.
- (182) Calamai, P.; Carotti, S.; Guerri, A.; Messori, L.; Mini, E.; Orioli, P.; Paolo Speroni, G. *J. Inorg. Biochem.* **1997**, *66*, 103.
- (183) Teyssot, M.-L.; Jarrousse, A.-S.; Manin, M.; Chevry, A.; Roche, S.; Norre, F.; Beaudoin, C.; Morel, L.; Boyer, D.; Mahiou, R.; Gautier, A. *Dalton Trans.* **2009**, 6894.
- (184) Liu, W.; Gust, R. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 755.
- (185) Stefan, L.; Bertrand, B.; Richard, P.; Le Gendre, P.; Denat, F.; Picquet, M.; Monchaud, D. *ChemBioChem* **2012**, *13*, 1905.
- (186) <http://ssaft.com/Blog/dotclear/index.php?post/2011/09/07/Podcast-Science%3A-Lrsquo%3Barbre-du-vivant-3/3>.
- (187) Kean, W. F.; Hart, L.; Buchanan, W. W. *Rheumatology* **1997**, *36*, 560.
- (188) Mirabelli, C. K.; Johnson, R. K.; Hill, D. T.; Faucette, L. F.; Girard, G. R.; Kuo, G. Y.; Sung, C. M.; Crooke, S. T. *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 218.
- (189) Tiekink, E. R. T. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **2002**, *42*, 225.
- (190) Gromer, S.; Arscott, L. D.; Williams, C. H.; Schirmer, R. H.; Becker, K. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 20096.
- (191) Urig, S.; Fritz-Wolf, K.; Réau, R.; Herold-Mende, C.; Tóth, K.; Davioud-Charvet, E.; Becker, K. *Angewandte Chemie International Edition* **2006**, *45*, 1881.
- (192) Go, Y.-M.; Jones, D. P. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* **2008**, *1780*, 1273.
- (193) Cox, A. G.; Brown, K. K.; Arner, E. S. J.; Hampton, M. B. *Biochem. Pharmacol.* **2008**, *76*, 1097.
- (194) Rigobello, M. P.; Scutari, G.; Folda, A.; Bindoli, A. *Biochem. Pharmacol.* **2004**, *67*, 689.
- (195) Rigobello, M. P.; Folda, A.; Dani, B.; Menabò, R.; Scutari, G.; Bindoli, A. *Eur. J. Pharmacol.* **2008**, *582*, 26.
- (196) <http://www2.ulg.ac.be/cord/mito et oxygene/mitapopt.html>.
- (197) McKeage, M. J.; Berners-Price, S. J.; Galettis, P.; Bowen, R. J.; Brouwer, W.; Ding, L.; Zhuang, L.; Baguley, B. C. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2000**, *46*, 343.

- (198) Berners-Price, S. J.; Bowen, R. J.; Galettis, P.; Healy, P. C.; McKeage, M. J. *Coord. Chem. Rev.* **1999**, 185–186, 823.
- (199) Ross, M. F.; Kelso, G. F.; Blaikie, F. H.; James, A. M.; Cochemé, H. M.; Filipovska, A.; Ros, T.; Hurd, T. R.; Smith, R. A. J.; Murphy, M. P. *Biochemistry (Mosc.)* **2005**, 70, 222.
- (200) Hoke, G. D.; Rush, G. F.; Bossard, G. F.; McArdle, J. V.; Jensen, B. D.; Mirabelli, C. K. *J. Biol. Chem.* **1988**, 263, 11203.
- (201) McKeage, M. J.; Maharaj, L.; Berners-Price, S. J. *Coord. Chem. Rev.* **2002**, 232, 127.
- (202) Rush, G. F.; Alberts, D. W.; Meunier, P.; Leffler, K.; Smith, P. F. *Toxicologist* **1987**, 7.
- (203) Barnard, P. J.; Berners-Price, S. J. *Coord. Chem. Rev.* **2007**, 251, 1889.
- (204) Noffke, A. L.; Habtemariam, A.; Pizarro, A. M.; Sadler, P. J. *Chem. Commun.* **2012**, 48, 5219.
- (205) Gasser, G.; Ott, I.; Metzler-Nolte, N. *J. Med. Chem.* **2010**, 54, 3.
- (206) Jaouen, G.; Metzler-Nolte, N. *Medicinal Organometallic Chemistry*, 2010; Vol. 32.
- (207) Jaouen, G. *Bioorganometallics: Biomolecules, Labeling, Medicine*, 2006.
- (208) Hartinger, C. G.; Dyson, P. J. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, 38, 391.
- (209) Bernhard, C.; Goze, C.; Rousselin, Y.; Denat, F. *Chem. Commun.* **2010**, 46, 8267.
- (210) Gros, C. P.; Eggenspiller, A.; Nonat, A.; Barbe, J.-M.; Denat, F. *MedChemComm* **2011**, 2, 119.
- (211) Citta, A.; Schuh, E.; Mohr, F.; Folda, A.; Massimino, M. L.; Bindoli, A.; Casini, A.; Rigobello, M. P. *Metallomics* **2013**, 5, 1006.
- (212) Wu, S.; Wang, X.; Zhu, C.; Song, Y.; Wang, J.; Li, Y.; Guo, Z. *Dalton Trans.* **2011**, 40, 10376.
- (213) Zobi, F.; Mood, B. B.; Wood, P. A.; Fabbiani, F. P. A.; Parsons, S.; Sadler, P. J. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2007**, 2007, 2783.
- (214) Nazarov, A. A.; Risse, J.; Ang, W. H.; Schmitt, F.; Zava, O.; Ruggi, A.; Groessl, M.; Scopelitti, R.; Juillerat-Jeanneret, L.; Hartinger, C. G.; Dyson, P. J. *Inorg. Chem.* **2012**, 51, 3633.
- (215) Farrer, N. J.; Salassa, L.; Sadler, P. J. *Dalton Trans.* **2009**, 10690.
- (216) Schatzschneider, U. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2010**, 2010, 1451.
- (217) Dougherty, T. J.; Gomer, C. J.; Henderson, B. W.; Jori, G.; Kessel, D.; Korbelik, M.; Moan, J.; Peng, Q. *J. Natl. Cancer Inst.* **1998**, 90, 889.
- (218) Detty, M. R.; Gibson, S. L.; Wagner, S. J. *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 3897.
- (219) Harris, A. L. *Nat. Rev. Cancer* **2002**, 2, 38.
- (220) Juris, A.; Balzani, V.; Barigelletti, F.; Campagna, S.; Belser, P.; von Zelewsky, A. *Coord. Chem. Rev.* **1988**, 84, 85.
- (221) Zeglis, B. M.; Pierre, V. C.; Barton, J. K. *Chem. Commun. (Cambridge, U. K.)* **2007**, 4565.
- (222) Singh, T. N.; Turro, C. *Inorg. Chem.* **2004**, 43, 7260.
- (223) Garner, R. N.; Joyce, L. E.; Turro, C. *Inorg. Chem.* **2011**, 50, 4384.
- (224) Betanzos-Lara, S.; Salassa, L.; Habtemariam, A.; Sadler, P. J. *Chem. Commun.* **2009**, 6622.
- (225) Zhou, Q.-X.; Lei, W.-H.; Hou, Y.-J.; Chen, Y.-J.; Li, C.; Zhang, B.-W.; Wang, X.-S. *Dalton Trans.* **2013**, 42, 2786.
- (226) Lottner, C.; Bart, K.-C.; Bernhardt, G.; Brunner, H. *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 2064.
- (227) Lottner, C.; Bart, K.-C.; Bernhardt, G.; Brunner, H. *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 2079.
- (228) Kim, Y.-S.; Song, R.; Hyun Kim, D.; Jun, M. J.; Sohn, Y. S. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11, 1753.
- (229) Lottner, C.; Knuechel, R.; Bernhardt, G.; Brunner, H. *Cancer Lett.* **2004**, 203, 171.
- (230) Brunner, H.; Gruber, N. *Inorg. Chim. Acta* **2004**, 357, 4423.
- (231) Mei, W.-J.; Wei, X.-Y.; Li, W.-N.; Xia, Q. *Transition Met. Chem. (London)* **2008**, 33, 1053.
- (232) Schmitt, F.; Govindaswamy, P.; Süß-Fink, G.; Ang, W. H.; Dyson, P. J.; Juillerat-Jeanneret, L.; Therrien, B. *J. Med. Chem.* **2008**, 51, 1811.
- (233) Pongratz, M.; Schluga, P.; Jakupec, M. A.; Arion, V. B.; Hartinger, C. G.; Allmaier, G.; Keppler, B. K. *J. Anal. At. Spectrom.* **2004**, 19, 46.

- (234) Haugland, R. P.; Spence, M. T. Z. *Molecular Probes: Handbook of Fluorescent Probes and Research Products*; 9 ed., 2002.
- (235) Treibs, A.; Kreuzer, F.-H. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1968**, 718, 208.
- (236) Burghart, A.; Kim, H.; Welch, M. B.; Thoresen, L. H.; Reibenspies, J.; Burgess, K.; Bergström, F.; Johansson, L. B. Å. *The Journal of Organic Chemistry* **1999**, 64, 7813.
- (237) Shen, Z.; Röhr, H.; Rurack, K.; Uno, H.; Spieles, M.; Schulz, B.; Reck, G.; Ono, N. *Chemistry – A European Journal* **2004**, 10, 4853.
- (238) Higgins, D. A.; Liao, X.; Hall, J. E.; Mei, E. *The Journal of Physical Chemistry B* **2001**, 105, 5874.
- (239) Wagner, R. W.; Lindsey, J. S.; Seth, J.; Palaniappan, V.; Bocian, D. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 3996.
- (240) Golovkova, T. A.; Kozlov, D. V.; Neckers, D. C. *The Journal of Organic Chemistry* **2005**, 70, 5545.
- (241) García, O.; Sastre, R.; del Agua, D.; Costela, A.; García-Moreno, I.; López Arbeloa, F.; Bañuelos Prieto, J.; López Arbeloa, I. *The Journal of Physical Chemistry C* **2006**, 111, 1508.
- (242) Chen, T.; Boyer, J. H.; Trudell, M. L. *Heteroat. Chem.* **1997**, 8, 51.
- (243) Hepp, A.; Ulrich, G.; Schmechel, R.; von Seggern, H.; Ziesel, R. *Synth. Met.* **2004**, 146, 11.
- (244) Hattori, S.; Ohkubo, K.; Urano, Y.; Sunahara, H.; Nagano, T.; Wada, Y.; Tkachenko, N. V.; Lemmetyinen, H.; Fukuzumi, S. *The Journal of Physical Chemistry B* **2005**, 109, 15368.
- (245) Koepf, M.; Trabolsi, A.; Elhabiri, M.; Wytko, J. A.; Paul, D.; Albrecht-Gary, A. M.; Weiss, J. *Org. Lett.* **2005**, 7, 1279.
- (246) Trieflinger, C.; Röhr, H.; Rurack, K.; Daub, J. *Angewandte Chemie International Edition* **2005**, 44, 6943.
- (247) Van Patten, P. G.; Shreve, A. P.; Lindsey, J. S.; Donohoe, R. J. *The Journal of Physical Chemistry B* **1998**, 102, 4209.
- (248) Shiraishi, Y.; Maehara, H.; Sugii, T.; Wang, D.; Hirai, T. *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 4293.
- (249) Qin, W.; Baruah, M.; Stefan, A.; Van der Auweraer, M.; Boens, N. *ChemPhysChem* **2005**, 6, 2343.
- (250) Tian, M.; Peng, X.; Feng, F.; Meng, S.; Fan, J.; Sun, S. *Dyes Pigm.* **2009**, 81, 58.
- (251) Wang, D.; Shiraishi, Y.; Hirai, T. *Tetrahedron Lett.* **2010**, 51, 2545.
- (252) Bozdemir, O. A.; Guliyev, R.; Buyukcikir, O.; Selcuk, S.; Kolemen, S.; Gulseren, G.; Nalbantoglu, T.; Boyaci, H.; Akkaya, E. U. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 8029.
- (253) Qi, X.; Jun, E. J.; Xu, L.; Kim, S.-J.; Joong Hong, J. S.; Yoon, Y. J.; Yoon, J. *The Journal of Organic Chemistry* **2006**, 71, 2881.
- (254) Boens, N.; Leen, V.; Dehaen, W. *Chem. Soc. Rev.* **2012**, 41, 1130.
- (255) Kim, H. J.; Kim, J. S. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 7051.
- (256) Atilgan, S.; Ozdemir, T.; Akkaya, E. U. *Org. Lett.* **2008**, 10, 4065.
- (257) Cheng, T.; Wang, T.; Zhu, W.; Yang, Y.; Zeng, B.; Xu, Y.; Qian, X. *Chem. Commun.* **2011**, 47, 3915.
- (258) Peters, C.; Billich, A.; Ghobrial, M.; Högenauer, K.; Ullrich, T.; Nussbaumer, P. *The Journal of Organic Chemistry* **2007**, 72, 1842.
- (259) Bergström, F.; Mikhalyov, I.; Häggglöf, P.; Wortmann, R.; Ny, T.; Johansson, L. B. Å. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 124, 196.
- (260) Isaksson, M.; Kalinin, S.; Lobov, S.; Wang, S.; Ny, T.; Johansson, L. B. A. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2004**, 6, 3001.
- (261) Oleynik, P.; Ishihara, Y.; Cosa, G. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 1842.
- (262) Meng, Q.; Kim, D. H.; Bai, X.; Bi, L.; Turro, N. J.; Ju, J. *The Journal of Organic Chemistry* **2006**, 71, 3248.
- (263) Popp, D.; Yamamoto, A.; Iwasa, M.; Maéda, Y. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2006**, 351, 348.
- (264) Yamada, K.; Toyota, T.; Takakura, K.; Ishimaru, M.; Sugawara, T. *New J. Chem.* **2001**, 25, 667.

- (265) Coskun, A.; Deniz, E.; Akkaya, E. U. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5187.
- (266) Dost, Z.; Atilgan, S.; Akkaya, E. U. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 8484.
- (267) Rurack, K.; Kollmannsberger, M.; Daub, J. *Angewandte Chemie International Edition* **2001**, *40*, 385.
- (268) Rurack, K.; Kollmannsberger, M.; Daub, J. *New J. Chem.* **2001**, *25*, 289.
- (269) Buyukcikir, O.; Bozdemir, O. A.; Kolemen, S.; Erbas, S.; Akkaya, E. U. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 4644.
- (270) Wada, M.; Ito, S.; Uno, H.; Murashima, T.; Ono, N.; Urano, T.; Urano, Y. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 6711.
- (271) Descalzo, A. B.; Xu, H.-J.; Xue, Z.-L.; Hoffmann, K.; Shen, Z.; Weller, M. G.; You, X.-Z.; Rurack, K. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 1581.
- (272) Gorman, A.; Killoran, J.; O'Shea, C.; Kenna, T.; Gallagher, W. M.; O'Shea, D. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10619.
- (273) Killoran, J.; Allen, L.; Gallagher, J. F.; Gallagher, W. M.; O'Shea, D. F. *Chem. Commun.* **2002**, 1862.
- (274) Tasior, M.; O'Shea, D. F. *Bioconjug. Chem.* **2010**, *21*, 1130.
- (275) Zhao, W.; Carreira, E. M. *Chemistry – A European Journal* **2006**, *12*, 7254.
- (276) Chen, J.; Burghart, A.; Derecskei-Kovacs, A.; Burgess, K. *The Journal of Organic Chemistry* **2000**, *65*, 2900.
- (277) Guo, B.; Peng, X.; Cui, A.; Wu, Y.; Tian, M.; Zhang, L.; Chen, X.; Gao, Y. *Dyes Pigm.* **2006**, *73*, 206.
- (278) Li, Z.; Mintzer, E.; Bittman, R. *The Journal of Organic Chemistry* **2006**, *71*, 1718.
- (279) Wang, D.; Fan, J.; Gao, X.; Wang, B.; Sun, S.; Peng, X. *The Journal of Organic Chemistry* **2009**, *74*, 7675.
- (280) Wu, L.; Burgess, K. *Chem. Commun.* **2008**, 4933.
- (281) Tomasulo, M.; Deniz, E.; Alvarado, R. J.; Raymo, F. M. *The Journal of Physical Chemistry C* **2008**, *112*, 8038.
- (282) Littler, B. J.; Miller, M. A.; Hung, C.-H.; Wagner, R. W.; O'Shea, D. F.; Boyle, P. D.; Lindsey, J. S. *The Journal of Organic Chemistry* **1999**, *64*, 1391.
- (283) Loudet, A.; Burgess, K. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 4891.
- (284) Herd, O.; Heßler, A.; Hingst, M.; Machnitzki, P.; Tepper, M.; Stelzer, O. *Catal. Today* **1998**, *42*, 413.
- (285) Pelletier, F.; Comte, V.; Massard, A.; Wenzel, M.; Toulot, S.; Richard, P.; Picquet, M.; Le, G. P.; Zava, O.; Edafe, F.; Casini, A.; Dyson, P. J. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 6923.
- (286) Wenzel, M.; Bertrand, B.; Eymin, M.-J.; Comte, V.; Harvey, J. A.; Richard, P.; Groessl, M.; Zava, O.; Amrouche, H.; Harvey, P. D.; Le, G. P.; Picquet, M.; Casini, A. *Inorg. Chem.* **2011**, *50*, 9472.
- (287) Bennett, M. A.; Smith, A. K. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions* **1974**, 233.
- (288) Auzias, M.; Therrien, B.; Süß-Fink, G.; Stepnicka, P.; Ang, W. H.; Dyson, P. J. *Inorg. Chem.* **2008**, *47*, 578.
- (289) Hoarau, D.; Delmas, P.; Ethypharm, Fr. . 2003, p 70 pp.
- (290) Li, L.; Han, J.; Nguyen, B.; Burgess, K. *The Journal of Organic Chemistry* **2008**, *73*, 1963.
- (291) Romieu, A.; Massif, C.; Rihn, S.; Ulrich, G.; Ziessel, R.; Renard, P.-Y. *New J. Chem.* **2013**, *37*, 1016.
- (292) Niu, S. L.; Ulrich, G.; Ziessel, R.; Kiss, A.; Renard, P.-Y.; Romieu, A. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 2049.
- (293) Ulrich, G.; Ziessel, R.; Harriman, A. *Angewandte Chemie International Edition* **2008**, *47*, 1184.
- (294) Olmsted, J. *The Journal of Physical Chemistry* **1979**, *83*, 2581.
- (295) Cui, A.; Peng, X.; Fan, J.; Chen, X.; Wu, Y.; Guo, B. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2007**, *186*, 85.

-
- (296) Bäumler, W.; Penzkofer, A. *Chem. Phys.* **1990**, *140*, 75.
- (297) Valeur, B. *Molecular Fluorescence: Principles and Applications*, 2001.
- (298) Vekshin, N. L. *Energy Transfer in Macromolecules*, 1997.
- (299) Speiser, S. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 1953.
- (300) Ziessel, R.; Bonardi, L.; Retailleau, P.; Camerel, F. *C. R. Chim.* **2008**, *11*, 716.
- (301) Casini, A.; Edafe, F.; Erlandsson, M.; Gonsalvi, L.; Ciancetta, A.; Re, N.; Ienco, A.; Messori, L.; Peruzzini, M.; Dyson, P. J. *Dalton Trans.* **2010**, *39*, 5556.
- (302) Rademaker-Lakhai, J. M.; van den Bongard, D.; Pluim, D.; Beijnen, J. H.; Schellens, J. H. M. *Clin. Cancer Res.* **2004**, *10*, 3717.
- (303) Tasan, S.; Zava, O.; Bertrand, B.; Bernhard, C.; Goze, C.; Picquet, M.; Le Gendre, P.; Harvey, P.; Denat, F.; Casini, A.; Bodio, E. *Dalton Trans.* **2013**, *42*, 6102.
- (304) Sunahara, H.; Urano, Y.; Kojima, H.; Nagano, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 5597.
- (305) Kostyuk, P. G.; Krishtal, O. A.; Pidoplichko, V. I. *The Journal of Physiology* **1972**, *226*, 373.
- (306) Jones, K.; Hoggard, P. G.; Sales, S. D.; Khoo, S.; Davey, R.; Back, D. J. *AIDS* **2001**, *15*, 675.
- (307) http://www.accessexcellence.org/RC/VL/GG/ecb/comparison_active_passive_transport.php.
- (308) Pagano, R. E.; Chen, C.-S. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1998**, *845*, 152.
- (309) Stebler-Roethlisberger, M.; Hummel, W.; Pittet, P. A.; Buergi, H. B.; Ludi, A.; Merbach, A. E. *Inorg. Chem.* **1988**, *27*, 1358.
- (310) Barragán, F.; Carrion-Salip, D.; Gómez-Pinto, I.; González-Cantó, A.; Sadler, P. J.; de Llorens, R.; Moreno, V.; González, C.; Massaguer, A.; Marchán, V. *Bioconjug. Chem.* **2012**, *23*, 1838.
- (311) Cinellu, M. A.; Maiore, L.; Minghetti, G.; Cocco, F.; Stoccoro, S.; Zucca, A.; Manassero, M.; Manassero, C. *Organometallics* **2009**, *28*, 7015.
- (312) Baruah, M.; Qin, W.; Basarić, N.; De Borggraeve, W. M.; Boens, N. *The Journal of Organic Chemistry* **2005**, *70*, 4152.
- (313) Dilek, Ö.; Bane, S. L. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 1413.
- (314) Vieille-Petit, L.; Süß-Fink, G.; Therrien, B.; Ward, T. R.; Stöckli-Evans, H.; Labat, G.; Karmazin-Brelot, L.; Neels, A.; Bürgi, T.; Finke, R. G.; Hagen, C. M. *Organometallics* **2005**, *24*, 6104.
- (315) Reiner, T.; Waibel, M.; Marziale, A. N.; Jantke, D.; Kiefer, F. J.; Fässler, T. F.; Eppinger, J. *J. Organomet. Chem.* **2010**, *695*, 2667.
- (316) Reiner, T.; Jantke, D.; Miao, X.-H.; Marziale, A. N.; Kiefer, F. J.; Eppinger, J. *Dalton Trans.* **2013**, *42*, 8692.
- (317) Stodt, R.; Gencaslan, S.; Müller, Iris M.; Sheldrick, William S. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2003**, *2003*, 1873.
- (318) Dialer, H.; Mayer, P.; Polborn, K.; Beck, W. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2001**, *2001*, 1051.
- (319) Therrien, B.; Ward, T. R.; Pilkington, M.; Hoffmann, C.; Gilardoni, F.; Weber, J. *Organometallics* **1998**, *17*, 330.
- (320) Yang, W.; Cheng, Y.; Xu, T.; Wang, X.; Wen, L.-p. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 862.
- (321) Russell-Jones, G.; McTavish, K.; McEwan, J.; Rice, J.; Nowotnik, D. *J. Inorg. Biochem.* **2004**, *98*, 1625.
- (322) Marek, M.; Kaiser, K.; Gruber, H. J. *Bioconjug. Chem.* **1997**, *8*, 560.
- (323) Cannizzaro, S. M.; Padera, R. F.; Langer, R.; Rogers, R. A.; Black, F. E.; Davies, M. C.; Tendler, S. J. B.; Shakesheff, K. M. *Biotechnol. Bioeng.* **1998**, *58*, 529.
- (324) Na, K.; Lee, T. B.; Park, K.-H.; Shin, E.-K.; Lee, Y.-B.; Choi, H.-K. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2003**, *18*, 165.
- (325) Mishra, P. R.; Jain, N. K. *Int. J. Pharm.* **2002**, *231*, 145.
- (326) Munoz, F. J.; Rumero, A.; Sinisterra, J. V.; Santos, J. I.; Andre, S.; Gabius, H.-J.; Jimenez-Barbero, J.; Hernaiz, M. J. *Glycoconj. J.* **2008**, *25*, 633.
- (327) Yamamura, M.; Kano, N.; Kawashima, T. *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 6497.

- (328) Sousa, C.; Mazière, C.; Melo, T. S. E.; Vincent-Fiquet, O.; Rogez, J. C.; Santus, R.; Mazière, J. C. *Cancer Lett.* **1998**, *128*, 177.
- (329) de Vree, W. J. A.; Essers, M. C.; Koster, J. F.; Sluiter, W. *Cancer Res.* **1997**, *57*, 2555.
- (330) Jasat, A.; Dolphin, D. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 2267.
- (331) Märkl, G.; Reiss, M.; Kreitmeier, P.; Nöth, H. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1995**, *34*, 2230.
- (332) Atefi, F.; Locos, O. B.; Senge, M. O.; Arnold, D. P. *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2006**, *10*, 176.
- (333) Atefi, F.; McMurtrie, J. C.; Turner, P.; Duriska, M.; Arnold, D. P. *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 6479.
- (334) Matano, Y.; Matsumoto, K.; Terasaka, Y.; Hotta, H.; Araki, Y.; Ito, O.; Shiro, M.; Sasamori, T.; Tokitoh, N.; Imahori, H. *Chemistry – A European Journal* **2007**, *13*, 891.
- (335) Matano, Y.; Matsumoto, K.; Hayashi, H.; Nakao, Y.; Kumpulainen, T.; Chukharev, V.; Tkachenko, N. V.; Lemmetyinen, H.; Shimizu, S.; Kobayashi, N.; Sakamaki, D.; Ito, A.; Tanaka, K.; Imahori, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *134*, 1825.
- (336) Saito, M.; Nishibayashi, Y.; Uemura, S. *Organometallics* **2004**, *23*, 4012.
- (337) Matano, Y.; Matsumoto, K.; Nakao, Y.; Uno, H.; Sakaki, S.; Imahori, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 4588.
- (338) Darling, S. L.; Stulz, E.; Feeder, N.; Bampos, N.; Sanders, J. K. M. *New J. Chem.* **2000**, *24*, 261.
- (339) Chong, R.; Clezy, P.; Liepa, A.; Nichol, A. *Aust. J. Chem.* **1969**, *22*, 229.
- (340) Adler, A. D.; Longo, F. R.; Shergalis, W. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 3145.
- (341) Luguya, R.; Jaquinod, L.; Fronczek, F. R.; Vicente, M. G. H.; Smith, K. M. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 2757.
- (342) Kruper, W. J.; Chamberlin, T. A.; Kochanny, M. *The Journal of Organic Chemistry* **1989**, *54*, 2753.
- (343) Meng, G. G.; James, B. R.; Skov, K. A. *Can. J. Chem.* **1994**, *72*, 1894.
- (344) Collman, J. P.; Gagne, R. R.; Reed, C.; Halbert, T. R.; Lang, G.; Robinson, W. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 1427.
- (345) Shao, Z.-j.; Ou, Y.-y.; Hu, Q.; Zeng, D.-l.; Chen, Z.-p. *Wuhan Univ. J. Nat. Sci.* **2005**, *10*, 919.
- (346) Roza-Fernández, M.; Valencia-González, M. J.; Díaz-García, M. E. *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 2406.
- (347) Barnes, N. R.; Stroud, P. D.; Robinson, K. E.; Horton, C.; Schreiner, A. F. *Biospectroscopy* **1999**, *5*, 179.
- (348) Hogan, M. C. *J. Appl. Physiol.* **1999**, *86*, 720.
- (349) Motterlini, R.; Kerger, H.; Green, C. J.; Winslow, R. M.; Intaglietta, M. *Am. J. Physiol.* **1998**, *275*, H776.
- (350) Sinaasappel, M.; Ince, C. *J. Appl. Physiol.* **1996**, *81*, 2297.
- (351) Sinaasappel, M.; Donkersloot, C.; van Bommel, J.; Ince, C. *Am. J. Physiol.* **1999**, *276*, G1515.
- (352) Sinaasappel, M.; van Iterson, M.; Ince, C. *The Journal of Physiology* **1999**, *514*, 245.
- (353) Shonat, R. D.; Johnson, P. C. *Am. J. Physiol.* **1997**, *272*, H2233.
- (354) Shonat, R. D.; Wilson, D. F.; Riva, C. E.; Pawlowski, M. *Appl. Opt.* **1992**, *31*, 3711.
- (355) Shonat, R. D.; Wachman, E. S.; Niu, W.; Koretsky, A. P.; Farkas, D. L. *Biophys. J.* **1997**, *73*, 1223.
- (356) Herd, O.; Heßler, A.; Hingst, M.; Tepper, M.; Stelzer, O. *J. Organomet. Chem.* **1996**, *522*, 69.
- (357) Harriman, A.; Hosie, R. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 2: Molecular and Chemical Physics* **1981**, *77*, 1695.
- (358) Harriman, A. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 2: Molecular and Chemical Physics* **1981**, *77*, 1281.

-
- (359) Faure, S.; Stern, C.; Guillard, R.; Harvey, P. D. *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 9232.
- (360) Beeby, A.; Dickins, R. S.; FitzGerald, S.; Govenlock, L. J.; Maupin, C. L.; Parker, D.; Riehl, J. P.; Siligardi, G.; Williams, J. A. G. *Chem. Commun.* **2000**, 1183.
- (361) Bolze, F.; Gros, C. P.; Harvey, P. D.; Guillard, R. J. *Porphyrins Phthalocyanines* **2001**, *5*, 569.
- (362) Harvey, P. D.; Elsevier Science: 2003; Vol. 18, p 63.
- (363) Anala, S.; Pavlovskaya, G. E.; Pichumani, P.; Dieken, T. J.; Olsen, M. D.; Meersmann, T. J. *Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 13298.
- (364) Wiehe, A.; Stollberg, H.; Runge, S.; Paul, A.; Senge, M. O.; Röder, B. J. *Porphyrins Phthalocyanines* **2001**, *05*, 853.
- (365) Sternberg, E. D.; Dolphin, D.; Brückner, C. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 4151.
- (366) Peeva, M.; Shopova, M.; Stoichkova, N.; Michailov, N.; Wohrle, D.; Muller, S. J. *Porphyrins Phthalocyanines* **1999**, *3*, 380.
- (367) Ravindra, P. K.; Zheng, G.; Kadish, K. M.; Smith, K. M.; Guillard, R. *The Porphyrin Handbook* **2000**, *6*, 157.
- (368) Birch, A. J. *Journal of the Chemical Society (Resumed)* **1950**, 1551.
- (369) Zelonka, R. A.; Baird, M. C. *Can. J. Chem.* **1972**, *50*, 3063.
- (370) Bennett, M. A.; Huang, T. N.; Matheson, T. W.; Smith, A. K. *Inorg. Synth.* **1982**, *21*, 74.
- (371) Winkhaus, G.; Singer, H. J. *Organomet. Chem.* **1967**, *7*, 487.
- (372) Marconi, G.; Baier, H.; Heinemann, F. W.; Pinto, P. c.; Pritzkow, H.; Zenneck, U. *Inorg. Chim. Acta* **2003**, *352*, 188.
- (373) Bodes, G.; Heinemann, F. W.; Marconi, G.; Neumann, S.; Zenneck, U. *J. Organomet. Chem.* **2002**, *641*, 90.
- (374) Pertici, P.; Vitulli, G.; Lazzaroni, R.; Salvadori, P.; Barili, P. L. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1982**, 1019.
- (375) Bennett, M. A.; Neumann, H.; Thomas, M.; Wang, X. Q.; Pertici, P.; Salvadori, P.; Vitulli, G. *Organometallics* **1991**, *10*, 3237.
- (376) Miyaki, Y.; Onishi, T.; Kurosawa, H. *Inorg. Chim. Acta* **2000**, *300–302*, 369.
- (377) Moldes, I.; de la Encarnación, E.; Ros, J.; Alvarez-Larena, Á.; Piniella, J. F. *J. Organomet. Chem.* **1998**, *566*, 165.
- (378) Bhalla, R.; Boxwell, C. J.; Duckett, S. B.; Dyson, P. J.; Humphrey, D. G.; Steed, J. W.; Suman, P. *Organometallics* **2002**, *21*, 924.

COMMUNICATIONS DES RÉSULTATS

Publications

BODIPY-phosphane as a versatile tool for easy access to new metal-based theranostics, S. Tasan, O. Zava, J. Pierron, B. Bertrand, C. Bernhard, C. Goze, M. Picquet, P. Le Gendre, P. D. Harvey, F. Denat, A. Casini and E. Bodio, *Dalton Trans.* **2013**, 42, 6102-6109

Novel Heterobimetallic Radio-Therapeutic: Preparation, Activity, and Biodistribution, L. Adriaenssens, Q. Liu, F. Chaux-Picquet, S. Tasan, M. Picquet, F. Denat, P. Le Gendre, F. Marques, C. Fernandes, F. Mendes, L. Gano, M. Paula, C. Campello and E. Bodio, submitted to *Angew. Chem.* **2013**

Communications Orales et par Affiches

Orales :

Porphyrin based hetero/bimetallic complexes to design new theranostic in oncology, S. Tasan, P. D. Harvey, P. Le Gendre, C. Gros, J.-M. Barbe, E. Bodio, *Journée des École doctorales*, Mai **2013**, Dijon, France

Bodipy-phosphane as a versatile tool for an easy access to new metal-based theranostics, E. Bodio, S. Tasan, O. Zava, J. Pierron, B. Bertrand, C. Bernhard, C. Goze, M. Picquet, P. Le Gendre, F. Denat, A. Casini, *ISMEC Acta – Acta of the International Symposia on Metal, Complexes*, Septembre **2012**, Lisbonne, Portugal

Conception of hetero/bi/polymetallic complexes for applications in oncology, S. Tasan, O. Zava, J. Pierron, B. Bertrand, C. Bernhard, C. Goze, M. Picquet, P. D. Harvey, P. Le Gendre, F. Denat, A. Casini, E. Bodio, *GECOM CONCOORD Groupe d'Etude en Chimie, Organométallique et Concertation en Chimie de Coordination*, Juin **2012**, Métabief, France

Synthesis of new Bodipy-phosphane-based theranostics for applications in oncology, S. Tasan, O. Zava, J. Pierron, B. Bertrand, C. Bernhard, C. Goze, M. Picquet, P. D. Harvey, P. Le Gendre, F. Denat, A. Casini, E. Bodio, *Journée des Écoles Doctorales*, Juin **2012**, Besançon, France

Hetero/bi/polymetallic complexes: therapeutic tools multitasking, E. Bodio, L. Adriaenssens, Q. Liu, S. Tasan, M. Wenzel, F. Denat, P. Le Gendre, *GECO 52 - 52^{ème} édition du Groupe d'Études de Chimie Organique*, Août **2011**, Aber Wrac'h, France

Affiches :

Nouvelle génération de complexes anticancéreux à base de BODIPY et de d'organométallique, S. Tasan, O. Zava, J. Pierron, B. Bertrand, C. Bernhard, C. Goze, M. Picquet, P. D. Harvey, F. Denat, A. Casini, P. Le Gendre, E. Bodio, *Exposition CNRS « La vie en transparence »*, Avril **2013**, Dijon, France

New generation bodipy and metal based anticancer complexes, P. E. Doulain, S. Tasan, O. Zava, J. Pierron, B. Bertrand, C. Bernhard, C. Goze, M. Picquet, P. D. Harvey, F. Denat, A. Casini, P. Le Gendre, E. Bodio, *Japanese-French Kinki-Divio Symposium*, Décembre **2012**, Dijon, France

New generation bodipy and metal based anticancer complexes, S. Tasan, O. Zava, J. Pierron, B. Bertrand, C. Bernhard, C. Goze, M. Picquet, P. D. Harvey, F. Denat, A. Casini, P. Le Gendre, E. Bodio, *BOSS XIII 13th Belgian Organic Synthesis*, Juillet **2012**, Louvain, Belgique

Les complexes hétérobi/polymétalliques au service du développement de nouveaux théranostiques, E. Bodio, S. Tasan, L. Adriaenssens, J. Pierron, Q. Liu, , M. Wenzel, A. Casini, M. Picquet, C. Goze, F. Denat, P. Le Gendre, GDR IMAGIV - Imageries in vivo Décembre **2011**, Paris, France

Optimized process for validation of NMR fragment library, I. Braccini, S. Deporte, E. Duhamel, S. Tasan, F. Pacalon, D. Thomas, V. Barberousse, *SMASH - Small Molecule NMR Conference*, Laboratoires FOURNIER, an ABBOTT company, Chemistry Research Unit, Septembre **2011**, Chamonix, France

RÉSUMÉ

Le travail présenté dans ce mémoire avait pour but de synthétiser de nouvelles molécules dont l'architecture donne accès à des complexes organométalliques fluorescents aux propriétés intéressantes pour le photovoltaïque et la théranostique. Ce projet a donc abordé plusieurs points principaux.

La première partie a été consacrée à la synthèse de nouveaux complexes organométalliques photoniques à base de titanocènes et de métalloporphyrines visant à la conception de cellules solaires. Après une brève introduction, nous avons présenté la synthèse des complexes de titane et de métalloporphyrines dans le premier chapitre. En particulier, nous avons décrit la synthèse des composés modèles et les difficultés rencontrées lors du passage aux dérivés porphyriniques. Cependant, au grès des résultats et des opportunités, le projet a été peu à peu tourné vers l'application de ce type d'objet « complexe organométallique – fluorophore » au domaine médical et plus particulièrement de la théranostique.

La deuxième partie de ce manuscrit traite de l'application de ce type de composés à la théranostique et plus précisément aux théranostiques optiques. Elle commence par une introduction détaillée qui définit les enjeux de cette thématique émergente autant du point de vue de l'imagerie que de la thérapie. Dans le deuxième chapitre, nous avons présenté la synthèse d'agents théranostiques présentant un fragment métallique à activité thérapeutique lié à un BODIPY, sonde fluorescente connue pour ses propriétés optiques intéressantes. Leur caractérisation et l'étude de leurs propriétés biologiques sont également décrites. Le troisième chapitre porte sur la synthèse de complexes hétérobimétalliques incorporant des métaux d'intérêt pour l'oncologie. Ces complexes sont également développés pour la recherche d'agents théranostiques. Le ligand utilisé pour l'imagerie médicale est la porphyrine. Ce chapitre inclut aussi les études photophysiques de nos complexes.

Mots clés :

Chimie organométallique
Chimie de coordination
Porphyrines
BODIPYs
Photophysique
Thérapie
Anticancéreux
Théranostique
Etudes de cytotoxicité
Imagerie optique

The goal of my PhD thesis was to synthesize new molecules, which give access to fluorescent organometallic complexes with interesting properties for photovoltaic and theranostic. In this project, several main points have been studied.

The first part of this manuscript concerns the synthesis of new metallocene and metalloporphyrins-based organometallic complexes to the design of solar cells. After a short introduction, we presented the synthesis of titanium complexes and metalloporphyrins in the first chapter. In particular, we described the synthesis of model compounds and the difficulties encountered during the transition to porphyrin derivatives. However, in view of results obtained and opportunities, the project has gradually turned towards the application of this type of object « organometallic complex - fluorophore » to the medical field and more particularly the theranostic.

The second part of this manuscript describes the application of this type of compounds to the theranostic field and more specifically the optical theranostic. It begins with a detailed introduction that defines the challenges of this emerging topic both from the point of view of the imaging as therapy. In the second chapter, we presented the synthesis of theranostic agents including a metal fragment with therapeutic activity linked to a BODIPY, a fluorescent probe known for its interesting optical properties. Their characterization and study of their biological properties are also described. The third chapter focuses on the synthesis of heterobimetallic complexes incorporating metals of interest in oncology. These complexes are also being developed for research theranostic agents. The ligand used for medical imaging is the porphyrin. This part also includes the photophysical studies of our complexes.

Keywords :

Organometallic chemistry
Coordination chemistry
Porphyrins
BODIPYs
Photophysics
Therapy
Cancer
Theranostic
Cytotoxicity studies
Optical imaging